



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH
TECHNOLOGIÍ

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

NÁVRH A REALIZACE MĚŘENÍ ELEKTRICKÝCH VLASTNOSTÍ BIOLOGICKÝCH TKÁNÍ

DESIGN AND REALZATION OF ELECTRIC MEASUREMENTS ON BIOLOGICAL TISSUES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. LUCIE KOCOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. PAVEL TOMÁNEK, CSc.

BRNO 2013



VYSOKÉ UČENÍ
TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky
a komunikačních technologií

Ústav biomedicínského inženýrství

Diplomová práce

magisterský navazující studijní obor
Biomedicínské inženýrství a bioinformatika

Studentka: Bc. Lucie Kocová

ID: 119720

Ročník: 2

Akademický rok: 2012/2013

NÁZEV TÉMATU:

Návrh a realizace měření elektrických vlastností biologických tkání

POKyny PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Vypracujte přehled metod charakterizace stárnutí masa (post mortem) se zdůrazněním elektrických metod. 2) Popište činnost experimentálního zařízení - sestavy pro elektrické měření, zejména v případě impedančních měření při nízkých a vysokých frekvencích. 3) Proveďte impedanční měření vzorků při nízkých a vysokých frekvencích (parametr skladovací doba). 4) Zpracujte naměřená data, výsledky vyhodnoťte a vzájemně porovnejte. 5) Zpracujte naměřené výsledky a vyhodnoťte závislost signálu na stárnutí vzorků. 6) Získané výsledky konfrontujte s literaturou.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

- [1] DAMEZ, J.-L., CLERJON, S., ABOUELKARAM, S., a LEPETIT, J. Dielectric behavior of beef meat in the 1–1500kHz range: Simulation with the Fricke/Cole–Cole model. Meat Science, 2007, roč. 77 č 4, s. 512-519, ISSN: 0309-1740.
[2] TUCHIN, V.V. Tissue Optics, SPIE 2007, ISBN: 978-0-8194-6633-0.

Termín zadání: 11.2.2013

Termín odevzdání: 24.5.2013

Vedoucí práce: prof. RNDr. Pavel Tománek, CSc.

Konzultanti diplomové práce: Ing. Tomáš Palai-Dany, Ph.D.

prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.

Předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ:

Autor diplomové práce nesmí při vytváření diplomové práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

Abstrakt:

Tato diplomová práce je zaměřena na elektrické vlastnosti biologických tkání, především masa. Elektrické vlastnosti závisí na fyzikálních a chemických parametrech, které určují koncentraci a pohyblivost iontů v rámci metabolických tekutin. Z elektrického hlediska může být maso jednoduše nahrazeno polem protáhlých vodivých buněk izolovaných od sebe izolační membránou. V další části je popsán Frickeův model, který nám popisuje měření impedance tkáně při nízkých a vysokých frekvencích. Cílem práce je posoudit, jak se mění závislost impedance dielektrického vzorku na kmitočtu použitého elektrického signálu v průběhu optimálního stárnutí či zrání masa.

Abstract:

This master's thesis is focused on the electrical properties of biological tissues and flesh in particular. Their electrical characteristics depend on the physical and chemical parameters that determine the concentration and mobility of ions in metabolic fluids. From the electrical point of view, flesh can be simply substituted by a field of elongated conductive cells which are separated by the insulating membrane from each other. In the next part, the Fricke model is introduced. The model describes the measurement of impedance of the tissue at low and high frequencies. The aim of the work is to assess how the impedance of the dielectric sample is dependent on the frequency of the electrical signal during the optimal aging or ripening of flesh.

Klíčová slova:

Biologická tkáň, elektrické vlastností tkání, impedance, Frickeův model, měření.

Keywords:

Biological tissue, electric properties of tissue, impedance, Fricke model, measurement.

Bibliografická citace:

KOCOVÁ, L. *Návrh a realizace měření elektrických vlastností biologických tkání*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2013. 67 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Pavel Tománek, CSc.

Prohlášení autora o původnosti díla:

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci na téma Návrh a realizace měření elektrických vlastností biologických tkání jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedeného diplomové práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této práce jsem neporušila autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhla nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědoma následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. Díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně dne

podpis autora

Poděkování:

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu mé práce profesoru RNDr. Pavlu Tománkovi, CSc. za jeho odbornou pomoc a trpělivost při zpracování této diplomové práce. Děkuji mu především za cenné rady, lidský přístup a vždy poskytnutou pomoc.

Obsah

Úvod.....	1
1. Definice a struktura masa	2
1.1. Struktura masa	2
1.1.1. Svalová tkáň	3
2. Chemické složení masa	4
2.1. Voda.....	4
2.2. Bílkoviny	5
2.3. Lipidy.....	6
2.4. Vitamíny	6
2.5. Minerální látky	7
2.6. Extraktivní látky	7
3. Vlastnosti masa.....	8
3.1. Vaznost masa	8
3.1.1. Faktory ovlivňující vaznost masa.....	9
3.2. Barva masa	9
3.3. Křehkost masa	10
4. Postmortální procesy v mase.....	11
4.1. Enzymové procesy ve svalovině.....	11
4.2. Autolýza masa	11
4.2.1. Prae-rigor.....	12
4.2.2. Rigor mortis.....	12
4.2.3. Zrání masa	12
4.2.4. Hluboká autolýza.....	12
4.2.5. Odchylný průběh posmrtných změn	13
5. Elektrické vlastnosti tkání.....	14
5.1. Elektrická vodivost	14
5.2. Elektrická permitivita	14
6. Elektrická impedance tkání a náhradní obvodové prvky	15

6.1.	Náhradní schéma tkáně.....	17
6.2.	Náhradní impedanční parametry	18
6.3.	Způsoby měření impedančních parametrů	19
6.3.1.	Dvouelektrodová metoda	20
6.3.2.	Čtyřelektrodová metoda	21
6.4.	Měření stejnosměrným napětím a proudem	22
6.5.	Vliv měřicího zařízení na měřenou impedanci.....	23
6.6.	Přechodový odpor elektrod.....	24
6.6.1.	Snížení přechodového odporu	25
6.7.	Diagnostické využití impedančních parametrů	25
7.	Dielektrické vlastnosti tkání.....	26
7.1.	Komplikace v měření dielektriky tkáně.....	27
7.1.1.	Nehomogenita tkáně.....	27
7.1.2.	Anizotropie tkáně	27
8.	Absorpce elektromagnetických vln ve tkáních.....	28
8.1.	Rozdělení diatermie	28
8.2.	Kapacitní buzení pole v tkáních	28
8.3.	Induktivní buzení pole v tkáních	29
8.4.	Šíření rovinných vln vrstvami tkání	29
9.	Optické vlastnosti biologických látek.....	30
9.1.	Průchod světla dielektrickým prostředím	30
9.2.	Vlastnosti dielektrických prostředí.....	31
9.3.	Odraz a absorpce světla	32
9.3.1.	Odraz	32
9.3.2.	Absorpce.....	32
10.	Frickeův model a Coleův - Coleův model	34
10.1.	Coleův-Coleův model	35
10.1.1	Hodnocení ϵ_0 a ϵ_∞ z experimentálních dat.....	36
10.2.	Přístup modelů – Coleův-Coleův a Frickeův model.....	37
11.	Elektrické měření.....	38

11.1.	Rychlost stárnutí vzorku při různých teplotách	39
11.1.1.	Chlazení masa.....	39
11.1.2.	Zmrazování masa.....	40
11.1.3.	Rozmrazování masa.....	40
11.2.	Různá hloubka zapíchnutých elektrod	44
11.3.	Rovnoběžný a kolmý řez	45
11.4.	Vzdálenost elektrod	47
11.5.	Závislost impedance na stáří vzorku.....	48
11.6.	Experiment s jinými druhy masa	50
12.	Návrh experimentální metody měření rozptylu světla objemového vzorku tkáně...	52
12.1.	Realizace optické sestavy senzoru	52
12.2.	Metoda měření	53
12.2.1.	Referenční měření.....	54
12.2.2.	Měření se vzorkem	54
12.3.	Měření odrazivosti světla.....	56
13.	Porovnání optické a elektrické metody	58
Závěr.....		60
Zdroje		62
Seznam zkratk, symbolů		66
Přílohy		67
Seznam příloh		67

Seznam obrázků

Obr. 1.1 Struktura svalu [4]	3
Obr. 3.1 Strukturní vzorec hemové skupiny	10
Obr. 6.1 Model elektrické impedance tkáně	15
Obr. 6.2 Kmitočtová závislost permitivity svalové tkáně ve srovnání s jinými strukturami [12]	18
Obr. 6.3 Dvouelektrodové (vlevo) a čtyřelektrodové (vpravo) měření	19
Obr. 6.4 Měření pomocí dvouelektrodové metody	20
Obr. 6.5 Měření pomocí čtyřelektrodové metody	21
Obr. 6.6 Vliv dipólové a koncentrační polarizace na měření impedance tkáně Z	22
Obr. 6.7 Náhradní schéma měření biologického roztoku	23
Obr. 7.1 Diagram parametrů α , β a γ tkáně [13]	26
Obr. 9.1 Polární a nepolární dielektrikum	30
Obr. 9.1 Polární a nepolární dielektrikum	30
Obr. 9.2 Odraz při rovinné ploše (vlevo) a při zakřivené ploše (vpravo)	30
Obr. 10.1 Frickeův model tkáně	34
Obr. 10.2 Elektrický proud protékající tkání	35
Obr. 10.3 Cole – Colův model tkáně	35
Obr. 10.4 Hypotetický Cole-Colův graf impedance biologické tkáně zobrazující tři překrývající se disperzní rozsahy α , β , a γ [13]	36
Obr. 11.1 Impedanční analyzátor a zapojení měřící techniky	38
Obr. 11.2 Závislost impedance na frekvenci u chlazeného masa a masa po rozmražení	41
Obr. 11.3 Srovnání masa zmraženého, rozmrzlého a chlazeného	42
Obr. 11.4 Postupné rozmrazování kuřecího masa	43
Obr. 11.5 Různé vzdálenosti elektrod	44
Obr. 11.6 Srovnání dvou hloubek	44
Obr. 11.7 Příklad vzorku kolmého na vlákna (vlevo) a rovnoběžného (vpravo) s vlákny	45
Obr. 11.8 Srovnání kolmého a rovnoběžného řezu	46
Obr. 11.9 Srovnání vzdálenosti elektrod- 1,5 cm, 6,5 cm	47
Obr. 11.10 Závislost impedance na stáří vzorku	48
Obr. 11.11 Graf postupného stárnutí masa v závislosti impedance na frekvenci	49
Obr. 11.12 Graf rozdílnosti v masě kuřecím, vepřovém a hovězím	51
Obr. 12.1 Realizace optické sestavy	52
Obr. 12.2 Schéma měřících sestav pro optické měření	53
Obr. 12.3 Nastavení optické sestavy	54
Obr. 12.4 Měření vzorku během tří dnů	55
Obr. 12.5. Schéma měřící sestavy pro měření odrazu světla	52
Obr. 12.6. Graf odrazivosti při postupném stárnutí vzorku	53

Úvod

V dnešní době je kvalita potravin velice diskutovaným tématem. I když kvalitě potravin věnuje Evropská unie trvale velkou pozornost, Evropská komise se rozhodla zahájit diskuzi na téma, jak zajistit nejvhodnější politiku jakosti zemědělských a potravinářských výrobků a vytvořit k tomu odpovídající rámec předpisů na ochranu a podporu kvalitních výrobků.

Strategie EU se v oblasti bezpečnosti potravin zabývá kromě bezpečnosti potravin i zdravím zvířat, zajišťováním dobrých životních podmínek pro jejich chov a otázkami rostlinolékařství; dále zajišťuje, aby se potraviny daly sledovat od jejich produkce až po konzumaci, aniž by se tím omezoval obchod nebo spotřebitelský výběr a v neposlední řadě zavádí přísné normy jak pro potraviny vyrobené v EU, tak pro potraviny z dovozu.

S průmyslovou výrobou potravin se zvyšují i nároky na jejich kvalitu a tím i na jejich kontrolu a měření jejich vlastností. Maso, jako jedna ze základních potravin obyvatel rozvinutých zemí, je díky svému charakteru velmi náchylné k degradaci v důsledku skladování. Proto se klade stále větší důraz na kontrolu jeho kvality a jeho vlastností. Ty můžeme tradičně rozdělit do pěti kategorií. A to na tepelné, optické, strukturální (geometrické), mechanické a elektrické vlastnosti. Tato práce je zaměřena na elektrické vlastnosti. Elektrické vlastnosti biologických tkání byly předmětem zájmu více než století. Znalost těchto elektrických vlastností vede k pochopení základní biologické procesů spojených se stárnutím masa.

První část této práce pojednává o vlastnostech masa obecně. Masu, ale i některým dalším potravinám živočišného původu, je přičítán podíl na výskytu některých civilizačních chorob. Odpůrci masa obvykle argumentují existencí různých náboženství, která spotřebu masa přímo zakazují. Na druhé straně je zřejmé, že zdravý tělesný i duševní vývoj člověka je spojen s jeho plnohodnotnou, vyváženou a pestrou výživou odpovídajícím fyziologickým potřebám každého jednotlivce a v tomto smyslu je nepochybně přiměřený podíl masa složkou správné výživy lidí.

Náplní druhé části je zkoumání závislosti elektrických vlastností na stárnutí masa (*post mortem*). Impedance biologických tkání závisí na struktuře a iontové vodivosti. Tyto dvě proměnné se podílejí na zrání masa. První práce napsaná již v roce 1936 dokázala, že maso je silně elektricky anizotropní, z důvodu přítomnosti dlouhých vyrovnaných svalových vláken naplněných elektrolytem a obklopených membránou s izolačními vlastnostmi. Tato anizotropní struktura masa je organizovaná ve třech rozměrech, můžeme ji také vidět jako kompozitní síť svalových vláken obklopených pojivovou tkání. Elektrické vlastnosti závisejí na fyzikálních a chemických parametrech, které určují koncentraci a pohyblivost iontů v rámci metabolických tekutin. Z elektrického hlediska může být maso jednoduše nahrazeno polem protáhlých vodivých buněk izolovaných od sebe izolační membránou.

1. Definice a struktura masa

Jako maso jsou definovány všechny části těl živočichů v čerstvém nebo upraveném stavu, které jsou vhodné pro výživu lidí. Tato obecná definice zahrnuje celosvětovou rozmanitost zdrojů masa a konzumační zvyklosti v jednotlivých zemích. V užším slova smyslu se masem rozumí jen kosterní svalovina, a to buď samotná svalová tkáň, nebo svalová tkáň včetně vmezeřeného tuku, cév, nervů, vazivových a jiných částí.

Maso je z nutričního hlediska velmi cenným zdrojem plnohodnotných bílkovin, vitamínů (zejména skupiny B), nenasycených mastných kyselin a minerálních látek. Právem je tedy považováno za nenahraditelnou složku výživy, i když je možné zajistit plnohodnotnou výživu i bez masa. Vedle nutričního významu je maso ve výživě důležité i svou chutností.

Ze zdravotního hlediska existuje optimum spotřeby masa, určené zvyklostmi a fyziologickými potřebami určité populace. V našich oblastech se považuje za optimum spotřeby přibližně 90 kg masa na osobu za rok. Současná nižší spotřeba je do značné míry dána ekonomickými důvody. [1,2]

1.1. Struktura masa

Maso má velmi složitou a různorodou histologickou strukturu, proměnlivé chemické složení, technologické a organoleptické vlastnosti masa. Struktura i složení závisí na způsobu života, funkci jednotlivých částí těla a na řadě intravitálních vlivů a průběhu posmrtných změn.

Struktura masa je tvořena buňkami uspořádanými do tkání (souborů buněk), které jsou stejné funkčně i morfologicky. Tkáň z technologického hlediska se člení na pět základních skupin: epitel, nervová tkáň, pojivová tkáň, svalová tkáň a tkáňové tekutiny.

Epitel pokrývá povrch těla, vnitřních orgánů a tělních tekutin. V mase tvoří malý podíl, proto se s ním setkáváme pouze v některých fázích výroby (většinou tehdy, když je nutné jej odstranit).

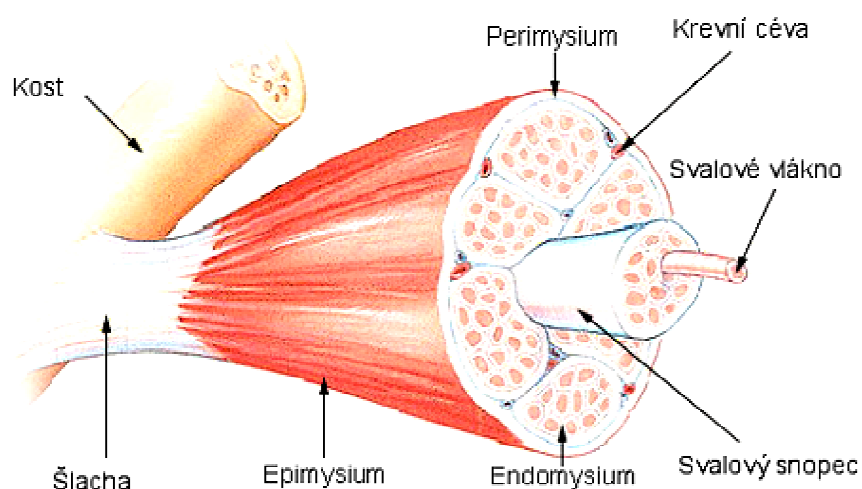
Nervová tkáň je tvořena nervovými buňkami (neurony). Jako potravina se prakticky využívá jen mozek, popř. nervová vlákna, která jsou obsažena ve svalovině. Hovězí nervová tkáň se jako potravina nepoužívá v souvislosti s výskytem BSE. Mozek a mícha se využívají také k farmaceutickým účelům. [2, 3]

1.1.1. Svalová tkáň

Svalovou tkáň si můžeme představit jako maso v užším smyslu. Podle buněčné stavby, vzhledu a způsobu inervace lze svalovou tkáň rozdělit do tří hlavních skupin. Příčně pruhovaná, hladká a srdeční svalovina.

Příčně pruhovaná svalovina je ovládána somatickým nervstvem, má příčné pruhování a rychle kontrahuje. Základní jednotkou příčně pruhované svaloviny je svalové vlákno. Na jeho povrchu je buněčná blána, sarkolema a pod ní jsou uložena buněčná jádra. Většinu objemu svalového vlákna tvoří myofibrily, kontraktilní vláknité útvary, prostor mezi nimi vyplňuje sarkoplasma (cytoplasma svalového vlákna).

Základní stavební jednotkou příčně pruhovaného svalu je svalové vlákno, které je obklopeno pojivovou tkání. Tato vlákna tvoří velmi dlouhé, uspořádané myofibrily, které jsou zarovnané ve směru svalové kontrakce. Každé svalové vlákno je obklopeno jemnou vazivovou obálkou a je uloženo do svalových snopců. Tyto svazky obklopují vazivové obaly perimysium a endomysium. Toto uspořádání můžeme vidět na obrázku 1.1 [3, 4].



Obr. 1.1 Struktura svalu [4]

2. Chemické složení masa

Chemické složení masa je jeho významnou jakostní charakteristikou, od níž jsou odvozeny mnohé důležité vlastnosti masa (nutriční hodnota, senzorické, technologické, kulinární vlastnosti aj.). Obecnější určení chemického složení masa je obtížné.

Libová svalovina se skládá z vody, bílkovin, tuků, minerálních látek, vitamínů a extraktivních látek. Sacharidů je v mase poměrně málo a jsou proto zahrnovány do sumy bezdusíkatých extraktivních látek. Z mnoho publikovaných údajů lze vyvodit, že základní složení čisté libové kosterní svaloviny jatečných zvířat je následující:

Tabulka 1.: Hodnoty složení masa [3]

Voda	70 až 75 %
Bílkoviny	18 až 22 %
Tuk	2 až 3 %
Minerální látky	1 až 1,5 %
Extraktivní látky dusíkaté	1,7 %
Extraktivní látky bezdusíkaté	0,9 až 1,0 %

Uvedené rozsahy hodnot lze chápat jako pásma nejčastěji zjištěných hodnot a nikoliv jako mezní hodnoty.

Jiné je složení výrobních mas, které obsahují více tuku, což je dáno přítomností ořezů (většinou tukových) získaných při úpravách výsekových mas.

Proto vyjádření základního složení masa se také uplatňuje tzv. Federovo číslo [31]. Toto číslo nám udává poměr obsahu vody a bílkovin v mase. U syrového libového masa je poměrně stálé a má hodnotu kolem 3,5 a pro vepřové libové maso se udává hodnota 3,62. Federova čísla lze využít k rychlému orientačnímu zjištění složení masa v průběhu technologických procesů. [3,4, 31]

2.1. Voda

Voda je nejvíce zastoupenou složkou masa. Z hlediska nutričního je bezvýznamná, má však velký význam pro senzorickou, kulinární a především technologickou jakost masa. Schopnost masa vázat vodu (vaznost) je jednou z nejvýznamnějších vlastností masa při jeho zpracování.

Asi 70% celkového obsahu vody je v myofibrilách, asi 20% je v sarkoplazmě a asi 10% v mimobuněčném prostoru. Toto rozdělení vody není neměnné, jednotlivé podíly vody mohou navzájem přecházet na principu difúze. Technologie masa rozeznává v podstatě dvě formy existence vody v mase, a to vodu volnou a vodu vázanou. Kritériem je zda voda z masa volně vytýká za daných podmínek nebo ne.

Voda ve svalovině je roztokem bílkovin, solí a sacharidů a dalších rozpustných látek, je tedy označována jako masná šťáva. Vytváří prostředí pro průběh enzymových reakcí ve svalové tkáni živých zvířat i v postmortálních biochemických procesech v mase. [1, 2]

2.2. Bílkoviny

Bílkoviny jsou nejvýznamnější složkou masa, zejména z hlediska nutričního a technologického. Bílkoviny jednotlivých částí masa se liší svým obsahem, poměrným zastoupením i vlastnostmi. V jednotlivých částech svalového vlákna jsou jednotlivé bílkoviny zastoupeny rovněž v různém množství a hlavní jsou:

- v sarkolemě : kolagen a elastin
- v sarkoplazmě : myogen, globulin, myoalbumin, myoglobin
- v myofibrilách: myosin, aktin, tropomyosin, troponin
- v jádrech: nukleoproteidy

V čisté svalovině je obsaženo 18 až 22 % bílkovin. Aminokyselinové složení jednotlivých bílkovin masa je však rozdílné.

Bílkoviny masa rozdělujeme do skupin podle rozpustnosti ve vodě a v solných roztocích. Rozdílná rozpustnost bílkovin závisí hlavně na poměru nepolárních a polárních skupin,

na jejich vzájemném rozložení a na síle interakcí mezi molekulami bílkovin a rozpouštědla. Tyto interakce jsou především ovlivňovány hodnotami pH s obsahem soli. Bílkoviny se dělí do tří skupin:

- **Bílkoviny sarkoplazmatické** – tyto bílkoviny jsou rozpustné ve vodě a v jiných solných roztocích. Jsou obsaženy v sarkoplazmě a mají převážně lobulární stavbu.
- **Bílkoviny myofibrilární** – tyto bílkoviny jsou rozpustné v roztocích solí, ve vodě jsou však nerozpustné. Mají vláknité molekuly a tvoří strukturu myofibril. Vzájemné interakce mezi molekulami bílkovin a molekulami rozpouštědla (vody) mají rozdílnou sílu, a proto je třeba pro dosažení rozpustnosti bílkovin použít roztoků solí s iontovou silou vyšší než 0,35.

- **Bílkoviny stromatické** (bílkoviny pojivových tkání včetně sarkolemy) – tyto bílkoviny nejsou rozpustné ve vodě ani v solných roztocích.

Rozdílná rozpustnost masa má velký význam pro zpracování masa na masné výrobky. [1, 2]

2.3. Lipidy

Mezi lipidy masa vysoce převažují tuky (triacylglyceroly) a to podílem přibližně 99%. V malé míře jsou pak zastoupeny heterolipidy (zejména fosfolipidy) a cholesterol (sterol doprovázející tuky). Tuky se nacházejí ve formě tuku svalového a tuku nepotního. Depotní tuky vytvářejí tukové tkáně, které se samostatně těží a zpracovávají na potravní nebo technické tuky. Svalový tuk pozitivně ovlivňuje křehkost a chutnost masa. Ve svalovém tuku jsou obsaženy lipofilní látky, které se uvolňují při tepelné úpravě masa a přispívají k jeho vůni a chutnosti.

Na druhé straně je vyšší obsah tuku v mase hodnocen negativně pro jeho vysoký energetický obsah a převahu nasycených mastných kyselin, zejména kyseliny palmitové a stearové. Z nenasycených převládá mořenová, kyselina olejová, zatímco nutričně významných polyenových mastných kyselin (linolová, linoleová, arachidonová) je obsaženo velmi málo. [1, 2]

2.4. Vitamíny

Maso je významným zdrojem hydrofilních vitamínů skupiny B. Tyto vitamíny jsou převážně obsaženy ve svalovině i ve vnitřních orgánech zvířat. Významný je obsah vitamínu B₁₂, který se vyskytuje pouze v potravinách živočišného původu. Obecně jsou bohatším zdrojem vitamínů játra než kosterní svalovina. Lipofilní vitamíny jsou přítomné zejména v játrech a v tukových tkáních. Vitamin C je v mase zastoupen jen ve zcela zanedbatelném množství, vyšší obsah tohoto vitamínu je pouze v játrech a čerstvé krvi. Vepřové maso je dobrým zdrojem thiaminu. Avšak během technologického a kulinárního zpracování dochází k velkým ztrátám thiaminu. Při smažení se ztratí 10 – 50 %, při vaření a dušení 50 – 70 %. Výše ztrát závisí např. na zpracování masa a obsahu tuku. Při nakládání masa dochází k reakci s dusitany k částečnému rozkladu thiaminu. Zmrazování a mrazírenské skladování výrazně neovlivňuje stabilitu thiaminu, avšak dochází k pomalému úbytku. Maso dále obsahuje kyselinu askorbovou, která zkracuje dobu uzení a stabilizuje barvu masa. [1, 2, 3]

2.5. Minerální látky

Jednotlivé minerální prvky jsou významné pro metabolismus jatečných zvířat, ale o pro technologické a nutriční vlastnosti masa. Minerální látky zahrnují všechny popeloviny, tedy i mineralizované prvky (síru, fosfor), které byly před spálením složkami organických látek masa. Minerálie představují přibližně 1% hmotnosti masa. Maso je dále významným zdrojem K, Ca, Mg, Fe, Se a dalších prvků, hovězí maso je dále důležitým zdrojem zinku a maso mořských ryb zdrojem jódu.

2.6. Extraktivní látky

Jedná se o početnou a nesourodou skupinu látek zastoupených v mase ve velmi malém množství. Jejich společnou vlastností je jejich extrahovatelnost vodou při zpracování masa při teplotách kolem 80°C. Tyto látky mají velký podíl na tvorbě aromatu a chutnosti masa, jiné jsou součástí enzymů, některé mají významné funkce v metabolických a postmortálních procesech. Největší význam mají sacharidy, organické fosfáty a dusíkaté extraktivní látky.

Sacharidy jsou v živočišných tkáních obsaženy v malém množství. Zastoupen je především glykogen a produkty jeho odbourávání (glykolytický potenciál). Je významný z technologického hlediska. Podle toho, kolik je ho obsaženo ve svalu v okamžiku porážky dojde k hlubšímu či menšímu okyselení tkáně, což má význam pro vaznost.

Organické fosfáty jsou zastoupeny hlavně nukleotidy, nukleovými kyselinami a jejich rozkladnými produkty. Prakticky nejvýznamnější jsou nukleotidy na bázi adeninu. Adenosintrifosfát (ATP) je hlavním článkem přenosu energie ve svalech.

Dusíkaté extraktivní látky jsou rovněž různorodou skupinou složek masa. Největší význam mají volné aminokyseliny, peptidy, kreatin a biogenní aminy. [1, 2, 3]

3. Vlastnosti masa

Stavba masa a jeho chemické složení ovlivňuje jeho technologické a organoleptické vlastnosti. Mezi nejvýznamnější vlastnosti masa patří vaznost, křehkost, barva, ale také elektrické a dielektrické vlastnosti.

3.1. Vaznost masa

Vaznost masa je jedna z nejdůležitějších vlastností masa, které ovlivňují jakost masných výrobků. Jde o schopnost masa udržet svou vlastní případně i přidanou vodu při působení nějaké síly nebo fyzikálního namáhání. Čím je tato síla vyšší, tím více vody přejde z imobilizovaného stavu do stavu volně pohyblivého. Analyticky zjišťovaný podíl imobilizované vody závisí nejen na působící síle, ale i metodě, kterou tento podíl stanovuje. Vaznost se obvykle vyjadřuje v % a vyjadřuje podíl vody vázané ku celkovému obsahu vody v mase. Tato vlastnost ovlivňuje ekonomiku výroby zejména ztráty vody při výrobě, skladování a tepelném opracování. Vaznost lze ovlivnit různými způsoby (zacházení s masem přísadami v masu)

Voda je v libové svalovině vázána různým způsobem a různě pevně. Nejpevněji je vázána hydratační voda, další podíly vody jsou imobilizovány mezi jednotlivými strukturálními částmi svaloviny, zbytek je volně pohyblivý v mezibuněčných prostorech. Z hlediska technologie se rozlišuje voda na volnou a vázanou, a to podle toho, zda z masa volně vytéká za daných podmínek, či nikoliv. Imobilizace vody nastává v síti membrán a vláken strukturálních bílkovin a je závislá na nábojích v molekule bílkoviny. [3, 10]

Náboje ovlivňují poměr přitažlivých a odpuzivých sil mezi jednotlivými strukturami svaloviny, čímž se zvětšuje nebo zmenšuje prostor, v němž se pak může imobilizovat více nebo méně vody. Uvnitř tohoto prostoru jsou molekuly vody navzájem propojeny vodíkovými můstky. [3]

Imobilizaci zásadním způsobem ovlivňuje spojování a štěpení příčných vazeb mezi bílkovinnými molekulami. Jde o tyto vazby:

- 1) příčné iontové vazby přes vícemocné kationty (vápník, hořčík a železo)
- 2) vodíkové vazby mezi karbonylovými a imunoskupinami peptidových vazeb
- 3) iontové vazby mezi kladně a záporně nabitými skupinami
- 4) disulfidové vazby cystinu. [3]

3.1.1. Faktory ovlivňující vaznost masa

Z faktorů, které ovlivňují schopnost masa vázat vodu, je třeba zdůraznit pH, koncentraci solí, obsah některých iontů, intravitální vlivy, průběh posmrtných změn, rozmělnění masa. Mnohé z těchto faktorů je možné technologicky ovlivňovat a tím také dosáhnout žádoucí vaznosti.

Náboj bílkovin a tím i vaznost významně závisí na pH. Při hodnotě pH přibližně 5,0 je vidět výrazné minimum vaznosti, které odpovídá hodnotě pH izoelektrického bodu (pI), kdy je vyrovnán počet kladných a záporných nábojů na molekule bílkovin, opačně nabitě skupiny se pak přitahují maximální silou.

Úpravou pH svaloviny směrem k izoelektrickému bodu dochází ke změně disociace funkčních skupin bílkovin, což se projeví změnou rozložení kladných a záporných nábojů na molekule bílkoviny. Rozštěpí se tak některé příčné elektrostatické vazby mezi peptidovými řetězci a zvýšením koncentrace stejně nabitých skupin se vytvářejí mezi vlákny odpuzivé síly. Jejich působením tak dochází k oddalování peptidových řetězců, v prostoru mezi nimi se imobilizuje více vody. [1, 3, 27]

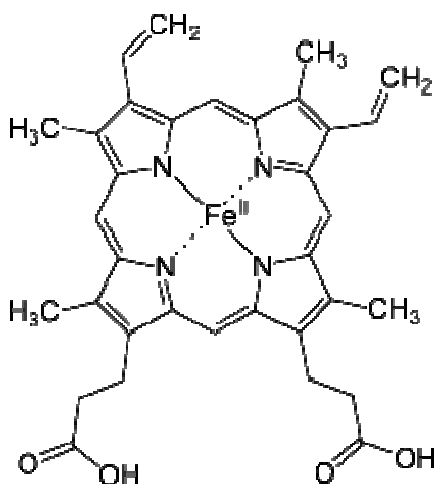
3.2. Barva masa

Barva masa je dána především obsahem a stavem hemových barviv. Je to velice nápadný znak, podle kterého posuzuje spotřebitel kvalitu masa a masných výrobků.

Z hemových barviv jsou nejvýznamnější myoglobin a hemoglobin. Jejich molekula je tvořena komplexy bílkovinného řetězce globinu a barevné skupiny – hemu. Zatímco myoglobin má v molekule jeden tento komplex, hemoglobin čtyři.

Myoglobin je svalové barvivo, které slouží jako zásobárna kyslíku ve svalech. Od hemoglobinu se liší větší afinitou ke kyslíku.

Hemoglobin je krevní barvivo, které zprostředkuje přenos kyslíku z plic do svalů. Je velmi podobný myoglobinu, liší se od něj zejména relativní molekulovou hmotností. Není tedy svalovým barvivem, může se ale v masě vyskytovat v různých koncentracích, podle toho jak bylo zvíře vykrmeno. Strukturní vzorec hemové skupiny vidíme na obrázku 2.1 [1, 2].



Obr. 3.1 Strukturní vzorec hemové skupiny

3.3. Křehkost masa

Křehkost masa je dána jeho strukturou, stavem a chemickým složením. Po dosažení křehkosti je třeba maso nechat dostatečně dlouho uzrát, aby se uvolnila posmrtná ztuhlost. Významně závisí i na obsahu pojivové tkáně, tedy na obsahu kolagenu, popř. dalších stromatických bílkovin, které strukturu masa zpevňují. K jejich uvolnění dochází rovněž enzymovou cestou při zrání masa. Křehnutí masa je možné urychlit pomocí zkřehčovacích enzymů – proteáz (papain), nebo máčením do roztoku organických kyselin či jiných lázní. Křehkost je dále ovlivňována obsahem intramuskulárního tuku, maso s vyšším obsahem toho tuku bývá křehčí. Křehkost masa můžeme hodnotit buď senzoricky nebo objektivně pomocí různě konstruovaných texturometrů či tenderometrů. Nejčastěji užívanou veličinou je síla ve stříhu [N] naměřená pomocí Warnerovy a Bratzlerovy metody. [1,2]

4. Postmortální procesy v mase

Maso jatečných zvířat je složitým a dynamickým biologickým systémem, ve kterém probíhá řada postmortálních biochemických procesů. Souhrnně je označujeme jako zrání masa, při němž maso nabývá požadovaných senzorických, technologických a kulinárních vlastností. Postmortální procesy jsou zahajovány okamžikem usmrcení jatečného zvířete a zahrnují soubor dějů, kterými se svalovina poraženého zvířete transformuje v maso. [1, 2]

Biochemické postmortální změny jsou souborem degradačních přeměn základních složek svalových tkání, především sacharidů a bílkovin, katalyzovaných tzv. nativními enzymy. Rozkladné reakce jsou nevratné a směřují přes stále jednodušší meziprodukty ke konečným degradačním produktům.

Postmortální změny v mase jsou ovlivňovány četnými faktory a jsou proto velmi rozmanité z hlediska rychlosti, intenzity a výsledného projevu. Rozhodují o aktuální jakosti masa a jejich kvalifikované posouzení má zásadní význam pro správné rozhodnutí o dalším uchování masa, nebo o jeho vhodném použití. [1, 2, 8, 11]

4.1. Enzymové procesy ve svalovině

Okamžik usmrcení jatečného zvířete zahajuje autolytické změny ve svalovině. Postmortální změny svalové tkáně zahrnují v podstatě stejné typy reakcí, které probíhaly v živém organismu. Uplatňují se tytéž nativní enzymy.

4.2. Autolýza masa

Autolýza neboli samovolný rozklad masa představuje rozsáhlý soubor enzymových reakcí, které přeměňují svalové tkáně poražených zvířat v maso. Biokatalyzátory těchto přeměn jsou nativní enzymy. Autolytické změny masa jsou nevratné.

Autolýzu masa můžeme členit do tří fází, které nejsou mezi sebou ostře ohraničeny a přecházejí plynule jedna v druhou. Tyto fáze jsou:

- Období před rigorem (prae-rigor); tzv. teplé maso
- Rigor mortis
- Zrání masa
- Hluboká autolýza.

4.2.1. Prae-rigor

V této první fázi posmrtných změn (před nástupem rigor mortis) je charakterizováno přítomností velkého množství ATP (adenosintrifosfát), takže aktin a myosin jsou disociované. Obsah ATP se po smrti zvířete udržuje zpočátku na stejné úrovni, po určitém čase však začne klesat. Tato prodleva v poklesu koncentrace ATP souvisí s vytvářením nových molekul ATP. Adenosintrifosfát je však současně odbouráván působením ATPázy.

V tomto období má maso vysokou vaznost a označuje se jako maso „teplé“ z důvodu toho, že má maso v této fázi vysokou teplotu (35-40°C). [1, 2, 11]

4.2.2. Rigor mortis

Poklesne-li koncentrace ATP pod určitou hladinu, nestačí se již udržovat aktin a myosin v disociovaném stavu a spojí se tenká a tlustá filamenta a nastává posmrtná ztuhlost (*rigor mortis*). Rozhodující je koncentrace ATP nikoliv pH. Hodnota pH v tomto okamžiku totiž závisí na řadě dalších faktorů a může dosahovat značně rozdílných hodnot. Při poklesu koncentrace ATP na zmíněnou úroveň se vytváří tzv. aktomyosinový komplex. Svalovina ztrácí svoji pružnost, stává se postupně pevnější. V důsledku spojení aktinu a myosinu se svalová vlákna smrští v příčném směru.

Hodnota pH klesá od počátku posmrtných změn až do úplného *rigor mortis*. Příčinou je zejména vytvoření kyseliny mléčné z glykogen. Pokles hodnoty pH závisí na řadě faktorů, jako je zejména, zásoba glykogenu v okamžiku porážky.

4.2.3. Zrání masa

Třetí fází posmrtných změn je zrání masa, kdy se postupně uvolňuje ztuhlost svalu, zlepšuje se vaznost, mírně roste pH a výrazně se zlepšují organoleptické vlastnosti. Uvolnění *rigor mortis*, a tím zvýšení křehkosti masa, souvisí s fragmentací myofibril zejména proteolýzou myofibrilních bílkovin. Uplatňují se přitom vlastní protézy svalové tkáně i protézy mikrobiální. K uvolnění ztuhlosti přispívá skutečnost, že nahromaděné anorganické fosfáty způsobují disociaci aktinu a myosinu podobně jako ATP. Dochází i ke štěpení kolagenu.

4.2.4. Hluboká autolýza

Zrání masa přechází při delším skladování v hlubokou autolýzu, což je děj vysloveně nežádoucí. Dochází zde ke štěpení peptidů na oligopeptidy a aminokyseliny, rozkládají se tuky, je možné i mikrobiální napadení. Chuť i konzistence masa se stávají nepříjemnými.

[1, 2, 11]

4.2.5. Odchylný průběh posmrtných změn

Za určitých podmínek existují rozdíly v průběhu posmrtných procesů. Vznik odchylek je ovlivněn genetickým vybavením jatečných zvířat a způsobem zacházení se zvířaty před porážkou. Změny pH masa nastávají jak při posmrtných změnách, tak i při některých technologických operacích, kdy se pH záměrně upravuje. V mase a v masných výrobcích se pH pohybuje v rozmezí hodnot 4 až 7. Jsou definovány dva defekty, které jsou spojeny s membránovou úpravou a změnou extracelulárního prostředí. Tyto anomálie se vyjadřují anglickými zkratkami PSE a DFD. [2]

4.2.5.1. PSE

První anomálie je označována jako **PSE** (pale = bledé, soft = měkké, exudative = vodnaté). Tento defekt vzniká v důsledku abnormálně rychlé glykogenolýze a k hromadění kyseliny mléčné, což má za následek pokles hodnot pH pod 5,8 (směrem k izoelektrickému bodu) a zvýšení teploty uvnitř svalu nad 42°C. Dochází k částečné denaturaci myosinu, k porušení struktury svalových vláken a vše vrcholí uvolňováním masné šťávy, změnou barvy a konzistence svaloviny. PSE, maso tedy není konzumovatelné [2, 6, 11]

4.2.5.2. DFD

Druhá vada je nazvána **DFD** (dark = tmavé, firm = tuhé, dry = suché) a její vlastnosti jsou opačné než u PSE. Jedná se o důsledek vyčerpání zvířat před porážkou. Zvířata během přepravy, případně během námahy před porážkou, spotřebují veškeré glykolytické zásoby, takže není k dispozici zdroj kyseliny mléčné pro zrání. K poklesu hodnoty pH, proto téměř nedojde (pH nad 6,2), maso se pak snadno kazí, je tmavé, tuhé a suché. [1,2].

Existují i další defekty. Například zkrácení svalových vláken chladem (cold shortening), nebo zvláštní obdoba PSE – zvaná hampshire. [2, 6, 11]

5. Elektrické vlastnosti tkání

Elektrické vlastnosti závisí na fyzikálních a chemických parametrech, které určují koncentraci a pohyblivost iontů v rámci metabolických tekutin. Z elektrického hlediska může být maso jednoduše nahrazeno polem protáhlých vodivých buněk izolovaných od sebe izolační membránou. [8]

Extracelulární (ECF) a intracelulární tekutiny (ICF) lze považovat za elektrolyty. V ECT výrazně převažují Na^+ a Cl^- ionty (142 mmol/l a 105 mmol/l). V ICF je K^+ hlavním intracelulárním kation (100 mmol/l), zatímco fosfát (PO_4^- 142 mmol/l) a bílkoviny (55 mmol/l) jsou hlavní intracelulární anionty. Osmotická zatíženost je podobná v intracelulárním (205 mmol/l) a extracelulární prostředí (154 mmol/l). Nosiče náboje jsou K^+ ionty, proteiny a organické kyseliny. [8, 9]

Existují dvě základní elektrické vlastnosti biologických tkání, a to elektrická vodivost a elektrická permitivita. Obě tyto vlastnosti jsou velice důležité při zpracování potravin elektrickým proudem nebo při určování kvality potravin. [6, 7, 8, 35]

5.1. Elektrická vodivost

Je to fyzikální veličina, která určuje, jak dobře protéká elektrický proud tkáněmi. Udává velikost elektrického proudu, který prochází průřezem vodiče S o délce L a odporu R . Je to inverzní hodnota elektrického odporu (míra odolnosti proti elektrickému proudu) a je vyjádřena jednotkou SI s/m v následujícím vztahu:

$$\rho = L/(SR). \quad (5.1)$$

5.2. Elektrická permitivita

Je dielektrická vlastnost, která popisuje vztah mezi elektrickým polem a elektrické indukce v materiálu. Stanovujeme interakci elektromagnetických vln s látkou a definuje nám hustotu náboje pod vlivem elektrického pole. V pevných látkách je tekutá, a u plynů permitivita závisí na dvou hodnotách:

- dielektrická konstanta ϵ' , v souvislosti s kapacitou látky a její schopnost uchovávat elektrickou energii
- dielektrické ztráty faktoru ϵ'' , vztahující se k energetickým ztrátám, když je vystaveno jídlo střídavému elektrickému poli (tj., dielektrická relaxační a iontové vedení). [6, 7]

6. Elektrická impedance tkání a náhradní obvodové prvky

Elektrická impedance je vlastnost materiálu, která brání toku proudu. Je to odpor, který je kladený střídavému proudu. Jednotkou impedance je Ohm Ω a obvykle se značí písmenem Z . Je-li impedance připojena k napětí U a protéká-li jí proud I , je její hodnota dána Ohmovým zákonem:

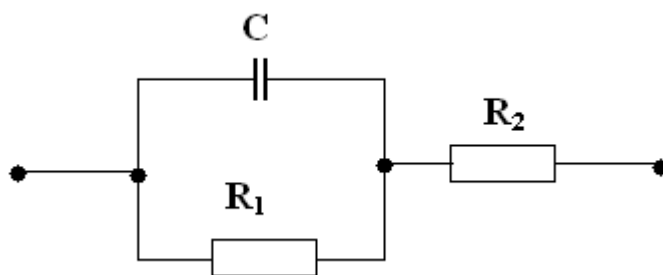
$$Z = \frac{U}{I} \quad (6.1)$$

Tato rovnice dále lze rozepsat takto:

$$Z = \frac{U}{I} = R + jX = |Z| \cdot \cos\varphi + j \cdot |Z| \cdot \sin\varphi [\Omega] \quad (6.2)$$

,kde R je resistance, X reaktance (imaginární část impedance), Z je impedance

Model elektrické impedance (obr. 6. 1) lze popsat jako paralelní zapojení rezistoru R_1 s kapacitorem C a do série k nim je zapojen rezistor R_2 . V tomto modelu kapacitor C modeluje celkovou kapacitu ve tkáni a to především kapacitu buněčných membrán, nebo také kapacitu plošných vazivových struktur. Rezistor R_1 modeluje elektrickou vodivost tělesných tekutin (především extracelulární). Rezistor R_2 odpovídá především kožnímu odporu (a z části tělesné tekutiny). [5, 9,10]



Obr. 6.1 Model elektrické impedance tkáně

Rezistence **R** (z rovnice 6.2) je reálná část impedance, která nám definuje schopnost prvku proud zmenšit, nebo zastavit. Je to odpor prostředí.

Tuková tkáň, která má přibližně 80% tuku má vynikající odpor, většina proudu je zastavena na membránách tukových buněk, jen malé množství proudu prochází oblastí s malou resistencí, to jsou např. kapiláry. Prvky s větším obsahem vody (krev, extracelulární tekutina, svalová tkáň) mají malou resistenci.

Reaktance **X** (rovnice 6.2) je imaginární část impedance, která nám definuje schopnost tkáně zpomalit proud. A dochází k fázovému posunu.

Buněčné membrány mají schopnost na velmi krátkou dobu zadržet elektrický náboj (vlastnost kapacitoru) – dojde k fázovému zpoždění proudu za napětím.

Zda buněčné membrány fungují jako kapacitor, nebo jako rezistor závisí na frekvenci procházejícího proudu:

- 50 kHz - buněčné membrány v tomto případě fungují jako rezistor. Tento jev nastává při nízké frekvenci, jakýkoliv proud, který tělem prochází, prochází jenom extracelulárním prostředím
- Vyšší než 50 kHz - elektrický proud prochází přes buněčné membrány, a tak můžeme měřit impedanci vně i uvnitř buněčného prostoru. Buněčné membrány fungují jako kapacitor.

Tento způsob je důkladněji popsán v kapitole 10- Frickův model. [5, 9,10, 26]

6.1. Náhradní schéma tkáně

Jak již bylo řečeno, elektrické vlastnosti tkání jsou vyjádřeny materiálovými konstantami, tj. permitivitou a měrnou vodivostí, které obecně mohou nabývat různých hodnot v různých místech prostoru. Chceme-li zapojit části organismů na vstup diagnostických přístrojů nebo na výstup přístrojů terapeutických, potřebujeme znát jejich náhradní vlastnosti jako obvodového prvku. V neposlední řadě pak samotné hodnoty obvodových náhradních parametrů, a zejména jejich změny, mají vlastní diagnostický význam. [5]

Tkáně živých organismů můžeme rozdělit podle elektrických vlastností na tři skupiny:

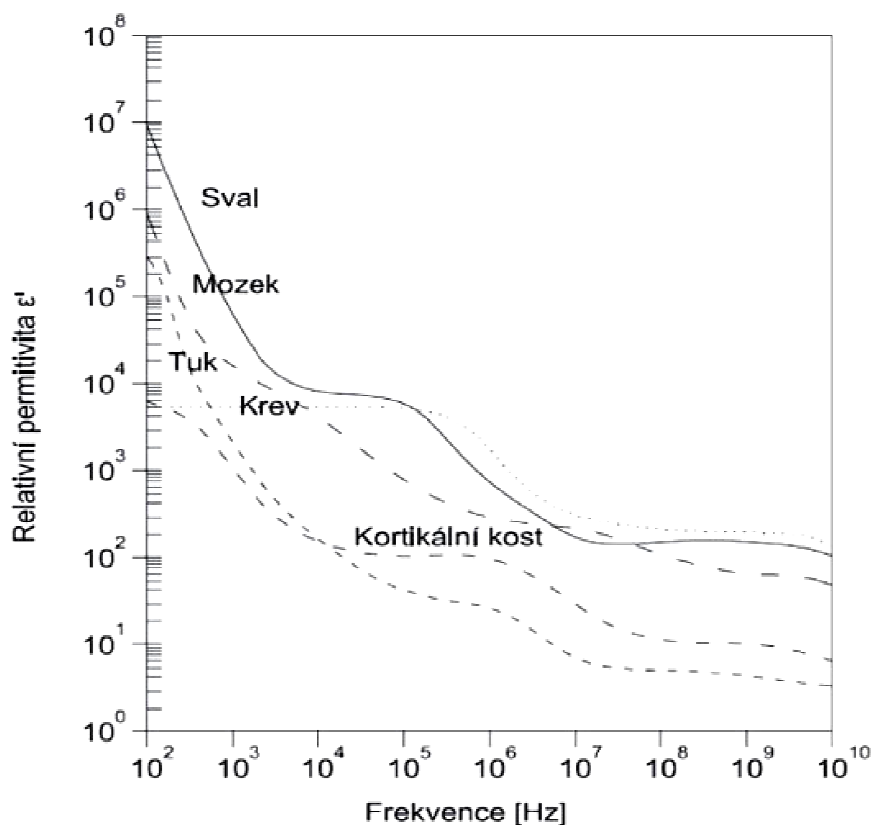
- Suspense buněk a bílkovinných molekul tekuté konzistence (krev, lymfa)
- Suspense v pevném stavu (svaly, kůže, játra, atd.)
- Tkáně s malým obsahem vody (tuk, kosti)

Buňky, bílkovinné molekuly, koloidní a jiné částice, jsou-li v roztoku elektrolytu, získávají dipólový moment, který se působením elektrického pole (tj. intenzity elektrického pole) orientuje ve směru působící síly. Elektrické náboje ve tkáních jsou tvořeny také disociovanými ionty vody a elektrolytů, které se rovněž pohybují ve směru působících sil pole. Výsledkem tohoto pohybu je zeslabení primárního vnějšího pole (kladné náboje přitahované k zápornému pólu zeslabují jeho účinky a naopak), což je ve shodě s obecným pravidlem, že každá soustava přechází do stavu s nejmenší energií. Tato skutečnost, která má uplatnění především při působení stacionárních polí, tj. při stejnosměrném napětí, se dá vyjádřit v náhradním schématu zdrojem o vnitřním napětí opačného spádu než je napětí působící. Skutečnost, že jde vždy o zeslabení účinků přiloženého primárního zdroje, umožňuje ekvivalentní vyjádření pomocí přídavné sériové impedance. Toto vyjádření je vhodnější než vyjádření ekvivalentním zdrojem, neboť může být zahrnuto do celkového náhradního impedančního zapojení. Vhodnými měřicími metodami pak můžeme polarizační impedanci z celkové naměřené impedance eliminovat.

Pokud jde o náhradní obvodové vyjádření samotných tkání, je výhodné znát celkové náhradní elektrické schéma (nejen výslednou impedanci). Jednotlivé prvky náhradního schématu často naznačují morfologickou strukturu a funkční zvláštnosti různých element tkání. [5, 10]

6.2. Náhradní impedanční parametry

Pomocí přímých měření dostáváme celkovou impedanci nebo admitanci. Jednotlivé prvky náhradních obvodů musíme z těchto celkových hodnot získat několikerým měřením na různých kmitočtech. Sama reálná a imaginární část celkové admitance je základem pro určení materiálových parametrů měrné vodivosti a permitivity. Kmitočtovou závislost relativní permitivity svalové tkáně ve srovnání s jinými tkáněmi máme zobrazenou v širokém kmitočtovém rozsahu na obr. 6.2 [5]



Obr. 6.2 Kmitočtová závislost permitivity svalové tkáně ve srovnání s jinými strukturami [12]

Z průběhu křivek můžeme rozlišit tři pásma:

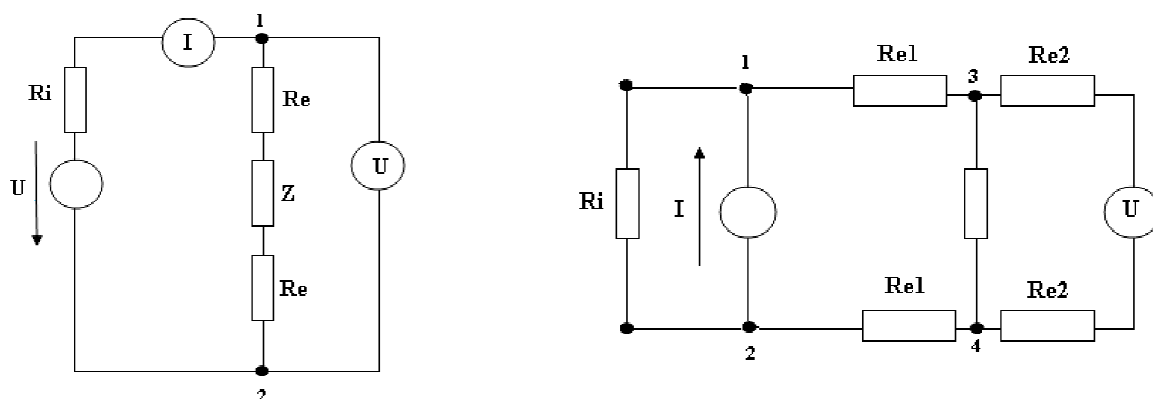
- pásmo vysoké permitivity při nízkých kmitočtech,
- pásmo přechodné v oblasti nižších radiových kmitočtů a
- pásmo nízkých hodnot permitivity na velmi vysokých kmitočtech.

Ostatní druhy tkání mají průběhy těchto závislostí podobné, mění se jen absolutní velikosti udávaných veličin, což souvisí s množstvím a počtem iontů v těchto tkáních. [5]

6.3. Způsoby měření impedančních parametrů

Při měření impedance tkáně můžeme použít tvrdého napětového zdroje a měříme proud v obvodu. Zde je tkáň zapojena do obvodu obvykle pomocí dvou elektrod, a měříme úbytek napětí na tkáni v sérii s přechodovými odpory mezi elektrodami a kůží. Použijeme-li zdroje konstantního proudu, můžeme s výhodou využít tzv. čtyřelektrodrového měření. Rozdíl mezi dvoelektrodrovou a čtyřelektrodrovou metodou vidíme na obrázku 6.3 [5, 6].

Po vložení elektrod může dojít k uvolnění elektrolytu do okolí tkáně, což může později vést ke špatné vodivosti v tomto okolí. Tato oblast může posunout část elektrod z iontového proudu a tím snížit polarizační účinek. Stejně jako u buněčné suspenze, hraje důležitou roli materiál elektrody při určování jeho polarizační impedance. K měření elektrických vlastností biologických materiálů jsou používány dva způsoby. A to dvoelektrodrová metoda a čtyřelektrodrová metoda. [5, 7, 13]

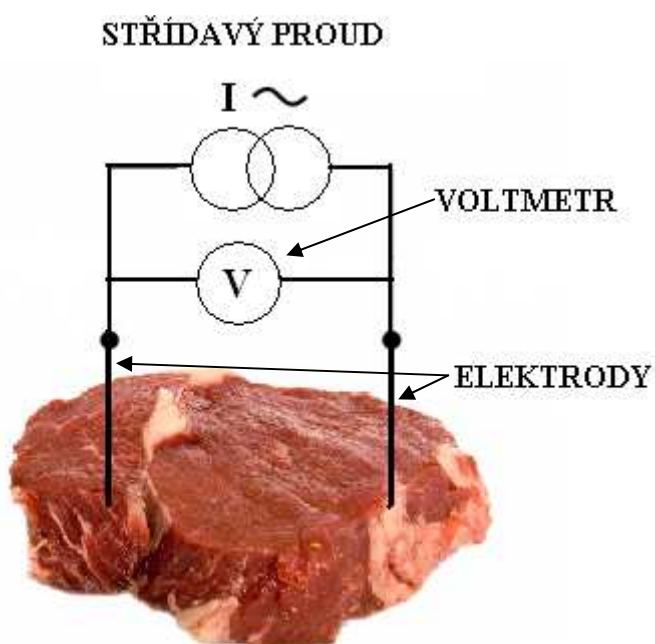


Obr. 6.3 Dvoelektrodrové (vlevo) a čtyřelektrodrové (vpravo) měření

6.3.1. Dvouelektrodová metoda

Při této metodě využíváme dvě elektrody k vybuzení elektrického proudu I v obvodu a k měření napětí V mezi těmito dvěma elektrodami (viz. obr. 6.4). Tato metoda je vhodná pro měření střídavého proudu. Při této metodě tedy měříme v sérii s měřenou impedancí poměrně špatně definovatelné přechodové odpory, jejichž velikost silně závisí na kvalitě připojení elektrod ke tkáni. Tento nedostatek je však při čtyřelektrodovém měření prakticky odstraněn.

Nemůžeme ji používat pro přímé měření proudu, protože by nám elektrody dávaly nesprávné výsledky vodivosti vzorku mezi elektrodami. Pro buněčné suspenze je důležité měření téměř nad 100 kHz, zatímco pro tkáň měřenou *in vivo* je významné měření pouze asi do 1 kHz. [5, 7]

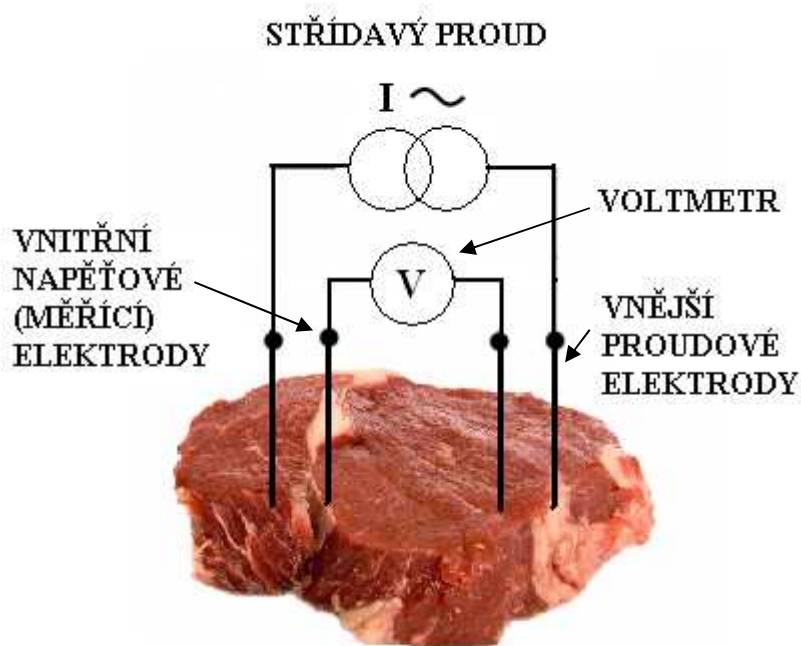


Obr. 6.4 Měření pomocí dvouelektrodové metody

6.3.2. Čtyřelektrodová metoda

Tato metoda se může používat pro stejnosměrný i střídavý proud. Používají se dva páry elektrod: vnější (proudové) a vnitřní (napěťové) elektrody. Toto měření provádíme, jak už je v názvu řečeno pomocí čtyř elektrod, dvě napěťové a dvě proudové elektrody. Napěťové elektrody jsou umístěny ve vzorku mezi proudovými elektrodami. Dvěma elektrodami tedy přivádíme proud, celkem nezávislý jak na impedanci tkáně Z , tak na přechodových odporech R_{el} . Dalšími dvěma elektrodami odvádíme napětí z určitého úseku tkáně k elektronovému voltmetru. Vlivem vysoké vstupní impedance voltmetru neteče jeho obvodem proud, a proto se neuplatní přechodové odpory mezi napěťovými elektrodami a tkání (viz. obr. 6.5)

Výhodou tohoto měření je, že polarizace na proudových elektrodách nemá žádný vliv na rozdíl mezi napěťovými elektrodami. [5, 7]



Obr. 6.5 Měření pomocí čtyřelektrodové metody

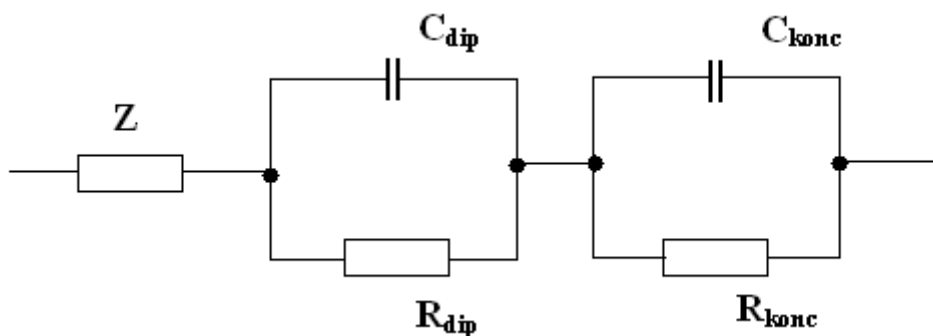
6.4. Měření stejnosměrným napětím a proudem

Význam měření stejnosměrným proudem je pro biologii omezený, především pro nekontrolovatelnou polarizaci. Při těchto měřeních je rozdíl mezi hodnotami naměřenými v okamžiku zapnutí a v ustáleném stavu. O hodnotě skutečné impedance tkáně bývá těžké rozhodnout. Význam měření stejnosměrnými metodami je v tom, že jimi lze zjistit ohmický odpor různých tkání.

Kromě statické složky impedance tkáně, dané při stejnosměrných metodách především vodivostí mezibuněčné tekutiny, má tkáň i dynamickou složku, které souvisí s polarizací. Průchodem proudem vznikají na biologických rozhraních proti-potenciály (jako při nabíjení kondenzátoru). Existuje dvojí polarizovatelnou tkáň: dielektrická (dipólová), která je daná okamžitou schopností rozhraní tvořit dipóly a druhá je koncentrační (iontová, difuzní), která se uplatňuje při dalším průchodu proudem pohybem iontů ovlivňovaných silami pole. Těmito přesuny je narušena elektrická rovnováha a vznikají polarizační články s novým rozložením potenciálu. Polarizační potenciály se po přerušení proudů rychle vybíjejí. Potenciály dipólů prakticky okamžitě a koncentrační potenciály s určitým zpožděním o dobu potřebnou k difuzi iontů.

Protože polarizační potenciály působí proti primárnímu přiloženému napětí, projevují se stejně jako přírůstek impedance. Přitom jejich vznik je obdobný jevům kapacitním. Proto můžeme tyto vlastnosti znázornit v náhradním schématu paralelním RC obvodu. Odlišíme-li dipólovou a iontovou polarizaci, dostaneme celkové náhradní schéma jako na obrázku 6.6.

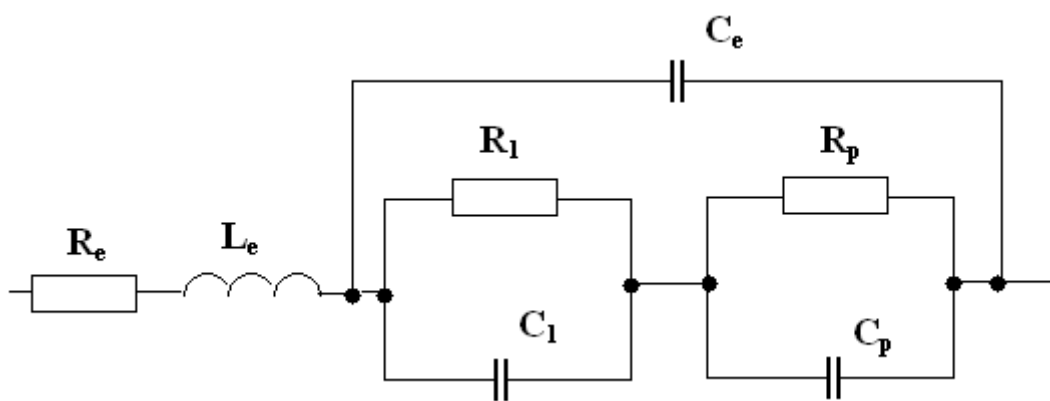
Vliv polarizace lze u stejnosměrných měření omezit jen omezením velikosti protékajících proudů. Význam použití malých proudů a napětí navíc vystupuje do popředí ze zjištění, že vztah mezi proudem a tekoucím tkání a přiloženým napětím je lineární jen do určité hodnoty proudové hustoty, za kterou je udávána hodnota 10^{-5} A/cm^2 . Při vyšších hustotách přestává platit linearita napětí a proudu, tedy mění se impedance, a to především v důsledku uplatnění polarizačních prvků. Podmínku omezené proudové hustoty můžeme splnit vhodnou kombinací velikosti proudu a plochy elektrod. [5]



Obr. 6.6 Vliv dipólové a koncentrační polarizace na měření impedance tkáně Z

6.5. Vliv měřicího zařízení na měřenou impedanci

Elektrody a jejich přívody ovlivňují do jisté míry měřenou impedanci. Záleží především na jejich rozměrech a umístění vůči měřenému objektu. U celého organismu při použití malých elektrod a krátkých přívodů, můžeme považovat za kapacitu mezi elektrodami a indukčnost přívodů za zanedbatelné. Avšak při měření malých vzorků tkání mohou být měřené elektrické vlastnosti značně ovlivňovány vlastnostmi upevňovacích zařízení a přívodů. Uvážíme-li navíc ještě vliv polarizace, s kterým musíme při nízkých kmitočtech počítat, můžeme si představit náhradní schéma celé sestavy podle obr. 6.7. V tomto obrázku je C_e kapacita upevňovacích zařízení přemost'ující měřený objekt L_e a R_e indukčnost a odpor přívodů, R_p a C_p reprezentuje polarizaci. A vlastní tkáň je zde reprezentována náhradními parametry R_1 a C_1 .



Obr. 6.7 Náhradní schéma měření biologického roztoku

Odpor přívodů můžeme při obvyklých délkách a materiálu vodičů obvykle zanedbat. Indukčnost přívodů a kapacitu upevňovacích zařízení můžeme pro dané vybavení jednou pro vždy snadno změřit. Měřením se zkratovanými elektrodami můžeme určit indukčnost přívodů L_e , při rozpojených elektrodách. Při již známé indukčnosti vypočítáme ze změřené reaktance naprázdno X_0 , hledanou kapacitu řešením rovnice. [10, 20]

$$X_0 = \omega L_e - \frac{1}{\omega C_e} \quad (6.3)$$

Z této rovnice, pak dostaneme:

$$C_e = \frac{1}{\omega^2 L_e - \omega X_0} \quad (6.4)$$

Při měření tkáňových vzorků pomocí impedančního můstku získáme výslednou impedanci měřeného roztoku $Z=R+jX$. Z tohoto neznámého impedančního parametru chceme vyjádřit dosud neznámé náhradní parametry samotné tkáně R_1 a C_1 . K tomu vyjádříme analyticky impedanci uvažovaného zapojení. K tomu použijeme metody postupného zjednodušování obvodu. Vypočteme impedanci měřeného obvodu R_1 , C_1 a polarizačního obvodu R_p , C_p . Součet jejich převrácených hodnot nám dá impedanci tkáně. Dalšími úpravami a konečným zanedbáním výrazu $\omega^2 A^2$ dostaneme výraz pro impedanci.

$$Z = R_{1p} + j\omega \left(L_e - C_1 R_1^2 - \frac{C_p}{\omega_p^2 + \omega^2 C_p^2} - C_e R_{1p}^2 \right) = R + jX \quad (6.5)$$

6.6. Přechodový odpor elektrod

Přechodový odpor vzniká při spojení dvou nezávislých vodičů a je způsoben tím, že dva materiály na sebe přesně nedoléhají, protože jejich povrch není nejlépe rovinně opracován. Tento jev je pro nás nežádoucí a snažíme se ho minimalizovat. V místech, kde se nežádoucí přechodový odpor vyskytuje, vzniká teplo a spoj se zahřívá (může vzniknout i požár), proto je nutné při měření dbát na to, aby byl přechodový odpor co nejmenší. Čím je lepší kontakt s tkání, tím je nižší přechodový odpor mezi elektrodou a tkání. Velké hodnoty přechodového odporu vedou k potřebě vyšších napětí, koncentraci proudu do ohraničených oblastí.

Velikost přechodových odporů se měří buď přímou metodou, tedy elektrickým měřicím přístrojem zvaným miliohmometr (Thompsonovým můstkem). Nebo nepřímou, pomocí voltmetru a ampérmetru. Měřicí proud u obou metod musí být větší než 200 mA. Při metodě měření pomocí voltmetru a ampérmetru potřebujeme zdroj stejnosměrného měřicího proudu. Proud nastavujeme podle měřeného odporu a citlivosti připojeného voltmetru. Nastavením vhodného proudu si usnadníme výpočet odporu. [29, 30]

6.6.1. Snížení přechodového odporu

Důležitou roli při snižování přechodového odporu hraje opracování elektrod. Kovové elektrody by měly být leštěné. Problém se může vyskytnout u elektrod, zhotovených s koncentrátory proudu (jehlánky, fokusační výstupky). Tento problém lze vyřešit pomocí chemického leštění.

Nejsnazší cestou ke zvýšení vodivosti je zvýšení přitlaku a to zejména plochých a bodových elektrod. Oproti tomu nízký přitlak je pozorovatelný zejména u sběracích elektrod, umístěných na částech těla s malým zakřivením. (prst, vnitřní plocha stehna, podbřišek).

Nejčastěji používaným způsobem řešení problému špatné vodivosti je nanesení, případně vložení lépe vodivého materiálu mezi elektrodu a tkáň. Nejobvyklejším a nejsnáze dostupným konektivem je voda. Tato metoda je vhodná, pokud v průběhu měření bude používána bodová elektroda, naopak není vhodná při použití ploché elektrody. Pro ploché elektrody je lepší vložit pod elektrodu plátek buničiny nasáklý vodou.

Snížení přechodového odporu lze dosáhnout:

- opracováním elektrod
- zvětšením přitlaku
- snížením vloženého odporu konduktivním materiálem [29, 30]

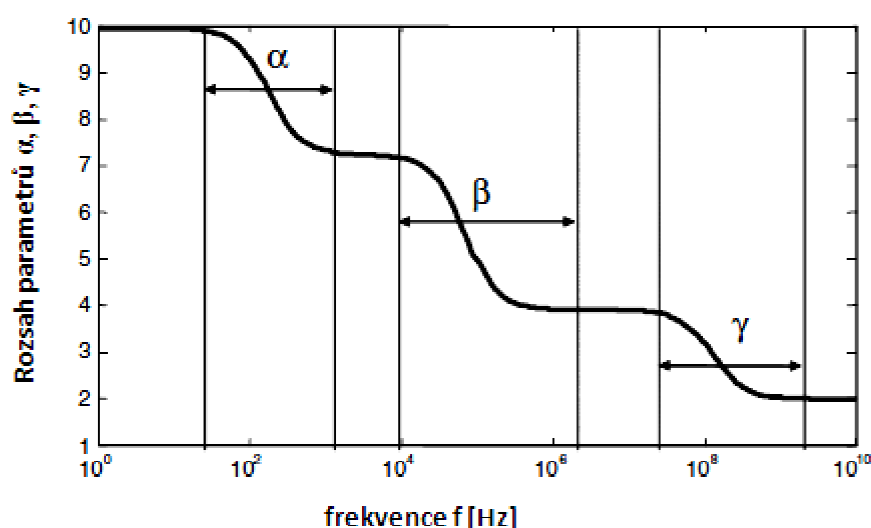
6.7. Diagnostické využití impedančních parametrů

Je zřejmé, že fyziologické i patologické změny stavu tělních tekutin, prokrvení tkání, či jiné změny, které působí na vodivost a permitivitu tkání, mají svoje projevy v náhradních impedančních parametrech. Kromě toho, v souvislosti s dynamickým stavem polarizovatelnosti tkání, probíhají procesy obdobné nabíjení a vybíjení kondenzátorů a navenek se projevují změnami reaktanční složky impedance. Proto nám měření impedance tkáně umožňuje vyhodnocování stavu nositelů jejich jednotlivých složek, a to nejen v samotném místě měření, ale zprostředkovaně i v mnoha dalších, třeba nepřístupných místech. [10, 20]

7. Dielektrické vlastnosti tkání

Studium dielektrických vlastností patří k základům aplikované vědy. Hlavní nálezy z této oblasti byly široce prozkoumány a společným cílem všech napsaných dokumentů je popsat dielektrické vlastnosti vybraných tkání. Jeden z nejrozsáhlejších dokumentů věnovaných dielektrickým vlastnostem napsali Geddes a Baker, kteří shrnuli zprávy o měrném odporu tkání. [17, 34]

Dielektrické vlastnosti biologických tkání jsou výsledkem vzájemného působení elektromagnetického záření a buněčných složek. Tyto vlastnosti zahrnují permitivitu (interakce se střídavým elektrickým polem) a permeabilitu (interakce s magnetickým polem). Obojí jsou komplexní parametry rovnice $z = x + iy$, kde reálná část $\text{Re}\{z\} = x$ zobrazuje amplitudu materiálu akumulované elektromagnetické energie a imaginární část $\text{Im}\{z\} = y$ představuje tlumení. Relativní permitivita tkáně může dosahovat hodnoty až do 10^6 nebo 10^7 při frekvenci 100 Hz. Při vysokých frekvencích se permitivita snižuje u třech parametrů známých jako α , β a γ disperze. Mohou být přítomny i jiné disperze. Disperze γ se pohybuje v oblasti gigahertzů a to díky polarizaci molekul vody. Disperze β je ve stovkách kilohertzů díky polarizaci buněčných membrán, které působí jako překážky toku iontů mezi intracelulární a extracelulární tekutinou. Nízká frekvence u α disperze je způsobena iontovodivními procesy v buněčné membráně. Tkáně mají konečnou iontovou vodivost odpovídající typu a rozsahu jejich iontového obsahu a iontové mobility. Dielektrické vlastnosti materiálu existují tedy při libovolné frekvenci elektromagnetického pole, kterému je materiál vystaven. [5, 13, 17, 18]



Obr. 7.1 Diagram parametrů α , β a γ tkáně [13]

7.1. Komplikace v měření dielektriky tkáně

Měření dielektrických vlastností tkání může být velice komplikované, a to díky nehomogenitě tkáně, anizotropii nebo fyziologickému stavu tkáně. Proto musí dávat pozor při postupu měření.

7.1.1. Nehomogenita tkáně

Tkáň je velice nehomogenní materiál. Buňka je složená z izolační membrány a vodivého cytosolu. Suspenzi buněk můžeme při nízkých frekvencích považovat za izolační inkluzi v tekutině. Izolace je tedy v buněčné membráně na kmitočtovém rozsahu MHz, kapacitní vazba mezi membránou je velice důležitá.

7.1.2. Anizotropie tkáně

Biologické materiály, jako jsou kosti nebo svaly, mají také silně anizotropní strukturu tvořenou a organizovanou elementy různých velikostí. Svaly tvoří svalová vlákna, která jsou obklopena pojivovou tkání. Tato vlákna tvoří velmi dlouhé, uspořádané myofibrily, které jsou zarovnané ve směru svalové kontrakce. Každé svalové vlákno je obklopeno jemnou vazivovou obálkou a je uloženo do svalových snopců. Tyto svazky obklopují vazivové obaly perimysium a endomysium.

Tyto svalové složky představují několik strukturálních úrovní, které mají vysoce rozdílné elektrické a dielektrické vlastnosti. Z elektrického hlediska může být maso nahrazeno dlouhými, vodivými buňkami izolovanými od sebe izolační membránou. Elektrické vedení po celé délce vlákna je jednodušší než vedení mezi vlákny extracelulárního matrixu, protože extracelulární matrix je méně vodivý než buňka samotná.

Biologické tkáně, hlavně maso, jsou anizotropní, tj. jejich impedance se mění s velikostí proudu protékajícího podélně nebo příčně svalovým vláknem [18]. Strukturální změny masa, které nastávají během zrání před tuhnutím a po tuhnutí rozpadem bílkovin, neovlivňují jenom mechanické, ale také elektrické a dielektrické vlastnosti masa. Obzvláště během ztuhnutí při zrání dochází k rozkladu v proteinech, které produkují strukturální trhliny stejně jako rozklad svalových vláken a degradace buněčné kostry. Tyto modifikace vedou ke snížení elektrické anizotropie masa ve vztahu ke zmenšující se rezistenci svalových vláken.

Proto se svalová tkáň projevuje silnou, elektrickou anizotropní vlastností. Podélná vodivost je výrazně vyšší než příčná vodivost. [7, 13, 17, 18, 34]

8. Absorpce elektromagnetických vln ve tkáních

8.1. Rozdělení diatermie

V historii použití tepelných účinků se elektromagnetických vln na ohřívání tkání se setkáváme s rozdělením diatermie na dlouhovlnnou, krátkovlnnou a mikrovlnnou. Generátory pro diatermii mohou pracovat na kmitočtech 13,55 MHz, 27,12 MHz a 2400 MHz s výkonem od 100 W do 500 W. [5]

Od dlouhovlnné diatermie se dnes již upustilo a dosud se používá krátkovlnná diatermie na kmitočtech 27,12 MHz a 40,68 MHz. Nejširší použití má v současné době mikrovlnná diatermie na kmitočtu 2400 MHz. Jednotlivé používané typy diatermií se od sebe značně liší. U krátkovlnné diatermie jsou rozměry exponovaných částí těla, a tím i vzdálenosti od zdroje záření, značně menší než délka vlny. Proto při jakémkoli způsobu buzení jde o použití blízkého pole. Jako zdroje záření jsou používány jednak desky kondenzátoru pro kapacitní buzení pole ve tkáních, jednak izolovaný vodič. Mikrovlnná diatermie je založena na působení pole ve vzdálené oblasti, které vniká ve formě rovinných vln do jednotlivých vrstev tkání.

Pro šíření a absorpci elektromagnetických vln mají rozhodující význam elektrické parametry prostředí. Pro diatermii jsou nejdůležitější parametry tří vrstev nacházejících se prakticky u všech částí těla: kůže, tuk a svaly. V některých případech je zvýrazněna i vrstva kostí, které mají podobné vlastnosti jako tuk, neboť v obou případech jde o tkáň s malým obsahem vody. [5]

8.2. Kapacitní buzení pole v tkáních

Prostředím umístěným mezi deskami kondenzátoru protéká vlivem působení elektrického pole proud, který je dán součtem proudů (vodivého a posuvného proudu).

Jeho hustota:
$$\vec{J} = (\sigma + j\omega\varepsilon)\vec{E} - \sigma_k\vec{E} \quad (8.1)$$

Při dobré vodivosti prostředí se posuvný proud o hustotě $j\omega\varepsilon\vec{E}$ projeví teprve při vysokých kmitočtech.

Absorbovaný výkon, který se ve tkáni přemění na teplo, je podle rovnice (8.1) dán jen vodivým proudem, a závisí na měrné vodivosti a na čtverci intenzity pole v daném objemu. Přitom poměr mezi vodivou a posuvnou složkou proudu je dán poměrem $\sigma/\omega\varepsilon$. S ohledem na dimenzování výstupních obvodů generátoru je potřeba znát poměr vodivého proudu k proudu celkového.

Je možné ho vyjádřit jako:

$$I_v = I \frac{\sigma}{\sqrt{\sigma^2 + \omega^2 \epsilon^2}} \quad (8.2)$$

Ve vrstevnatém prostředí s různými elektrickými parametry jednotlivých vrstev se absorbovaný výkon rozdělí v závislosti na vodivosti. Příkladem může být tkáň tuková a svalová. Tuk má menší obsah vody než sval a tudíž vodivost tuku je o řád menší než vodivost svalů. Při aplikaci kapacitního buzení pole bývají desky kondenzátoru rovnoběžné s povrchem těla a tím i s rozhraními jednotlivých tkání. V důsledku toho má intenzita elektrického pole prakticky vždy kolmý směr na rozhraní mezi tkáněmi. V mezích podmínkách na rozhraní dvou prostředí musí být v jednotlivých vrstvách zachována rovnost součinů. [5]

8.3. Induktivní buzení pole v tkáních

Při induktivním buzení se zkoumaná část omotá jedním nebo více závitů kabelu, který tvoří cívku. Intenzita elektrického pole smyčky je v každém bodě rovnoběžná s tečnou ke smyčce (z toho plyne rozdílné chování induktivního pole proti kapacitnímu). Při induktivním buzení je ohřev tkání přímo úměrný jejich vodivosti. Oteplení svalové tkáně bude větší než oteplení tukové tkáně. Tato vlastnost je výhodná pro prohřívání vnitřních orgánů. Induktivní buzení pole ve tkáních má však i své omezení. Každá cívka má určitou vlastní kapacitu, chová se jako indukčnost jen do kmitočtu daného vlastní rezonancí. Pro vyšší kmitočty ztrácí induktivní charakter a chová se jako kapacita. [5]

8.4. Šíření rovinných vln vrstvami tkání

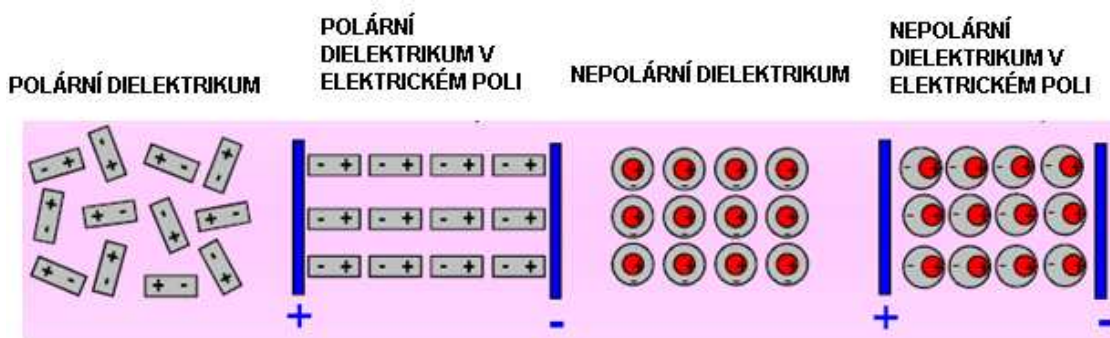
Ve vzdálenostech, které několikanásobně převyšují délku vlny, se pole všech zdrojů chová jako “vzdálené pole“. To se vyznačuje tím, že jeho elektrická i magnetická intenzita leží v rovině kolmé na směr šíření, jsou navzájem kolmé a jejich velikosti jsou spolu svázány velikostí charakteristické impedance prostředí. V důsledku změny fáze intenzit pole v závislosti na vzdálenosti je přirozeným tvarem vlnoplochy koule, proto vyzařované vlny jsou většinou vlny kulové. Ve větších vzdálenostech může být část kulové vlnoplochy aproximována rovinou. Navíc některé zářiče umožňují svou konstrukcí přímo vyzařovat rovinnou plochu. Ve skutečné rovině vlně je vyzářený výkon rozložen na stále stejně velké vlnoploše (při šíření tedy nedochází k jeho útlumu). Tím i intenzita pole nemění svou velikost se vzdáleností, pokud nedochází ke ztrátám výkonu absorpcí. Ve skutečnosti se takto idealizované rovinné vlny nevyskytují a vlny vyzařované různými zářiči se jim jen do určité míry blíží. [5]

9. Optické vlastnosti biologických látek

Šíření světla v hustém prostředí je možné si představit jako proud částic (fotonů). Každá částice nese lokalizované kvantum energie. Statisticky průměrný přenos fotonů a jejich energie hustým prostředím, jako je tkáň, může být matematicky popsán různými optickými modely. Můžeme přijmout klasický přístup a představit si šíření světla jako spojitý přenos energie elektromagnetickými vlnami. Šíření světla je matematicky popsáno vlnovým vektorem \mathbf{k} , který je rozptýlen a absorbován v prostředí. Jak již bylo řečeno výše, světlo se tkáněmi šíří díky dvěma typům interakcí světla s hmotou: absorpcí a rozptylem. Kromě viditelného a blízkého IČ světla existují i jiné formy záření, které jsou absorbovány tkání. Jde zejména o absorpci rentgenových paprsků, které umožňují vytvořit obraz měkkých biologických tkání. Rozptyl, jakmile se vlnová délka použitého světla blíží rozměrům části, již nemůže zde být ignorován, jako u jiných zobrazovacích metod. [10, 14, 15]

9.1. Průchod světla dielektrickým prostředím

Některá dielektrická prostředí jsou složena z částic (molekuly, atomy), které mají stálé (permanentní) elektrické dipólové momenty (polární dielektrika). U nepolárních dielektrik elektrické dipóly vznikají posunutím těžiště kladného a záporného náboje, které je způsobeno vnějším polem (viz. obr. 9.1).



Obr. 9.1 Polární a nepolární dielektrikum [14]

Molekuly se neustále srážejí v důsledku nahodilého tepelného pohybu – dipóly jsou neuspořádané. Ve vnějším elektrickém poli se dipóly natáčí do směru pole a dochází k částečnému uspořádání dipólů (polarizace dielektrika). Tím vzniká vnitřní elektrické pole, které má opačnou orientaci než vnější elektrické pole. Na makroskopické úrovni polarizaci dielektrika popisujeme vektorem dielektrické polarizace, který je pro nepříliš silná pole přímo úměrný vektoru elektrické intenzity vnějšího pole:

$$\vec{P} = \varepsilon_0 \chi \vec{E}, \quad (9.1)$$

kde ε_0 značí permitivitu vakua a χ je elektrická susceptibilita.

Účinky elektrického pole v dielektriku charakterizuje vektor elektrické indukce:

$$\vec{D} = \varepsilon_0 \vec{E} + \vec{P} = \varepsilon \vec{E}, \quad (9.2)$$

kde $\varepsilon = \varepsilon_0 (1 + \chi)$ je permitivita prostředí, ε_0 je permitivita vakua. [14, 15]

9.2. Vlastnosti dielektrických prostředí

Podle makroskopické (Maxwellovy) teorie je dielektrické prostředí bezztrátové (intenzita světla se při průchodu nezeslabuje). Skutečné zeslabení světla v dielektriku je možné vysvětlit jen pomocí mikroskopické teorie. V rámci makroskopické teorie mohou být vlastnosti dielektrického prostředí charakterizovány elektrickou susceptibilitou, permitivitou nebo indexem lomu. V optice většinou pracujeme s nemagnetickými dielektrickými materiály ($\mu = \mu_0$). V nemagnetickém prostředí pro index lomu platí:

$$n = \sqrt{\frac{\varepsilon}{\varepsilon_0}} = \sqrt{1 + \chi}. \quad (9.3)$$

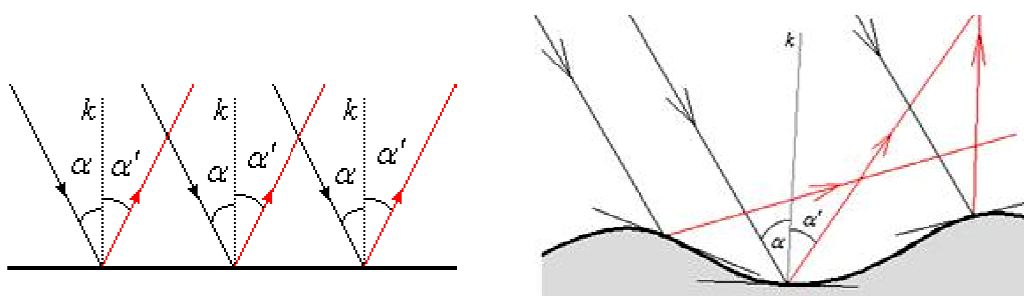
Nejběžněji používaným dielektrikem je optické sklo, které se používá pro výrobu optických komponent (čočky, hranoly,...). [13, 14, 15]

9.3. Odraz a absorpce světla

Když prochází světlo světla prostředím, či materiálem dochází ke ztrátám intenzity způsobených absorpcí, rozptylem, neb odrazem. [23]

9.3.1. Odraz

Odraz světla nastává při dopadu světelného paprsku na rozhraní dvou optických prostředí pod úhlem dopadu α . Tento úhel paprsek svírá s kolmicí k , která je vztyčená v místě dopadu na rozhraní dvou optických prostředí. (viz obr. 9.2). Jestliže rozhraní není rovinné, uvažujeme kolmici na tečnou rovinu zakřivené plochy v místě dopadu světelného paprsku (viz obr 9.2). V tomto případě dopadající paprsek a kolmice dopadu tvoří rovinu, které se říká rovina dopadu. Odražený paprsek svírá s kolmicí dopadu úhel odrazu α' . Vztah mezi úhlem dopadu a úhlem odrazu popisuje zákon odrazu, který říká: velikost úhlu odrazu je rovna velikosti úhlu dopadu. Odražený paprsek zůstává v rovině dopadu. [15, 16, 23]



Obr. 9.2 Odraz při rovinné ploše (vlevo) a při zakřivené ploše (vpravo) [23]

9.3.2. Absorpce

Absorpce je přenos energie z dopadajícího světla na okolní tkáň, dochází k pohlcení a zeslabení záření. Matematickým vyjádřením absorpce záření je Lambertův zákon. Tento zákon uvádí, že absorpce světla je úměrná tloušťce vrstvy homogenní látky, kterou světlo prochází. Tento zákon je vyjádřen vzorcem:

$$I = I_0 e^{-\alpha x} \quad (9.4)$$

,kde

I =intenzita prošlého světla

I_0 =intenzita světla vstupujícího do prostředí

α = absorpční koeficient

x =tloušťka vzorku.

Lambertův zákon upravil Beer, který rozdělil absorpční koeficient α do dvou proměnných, a to na β součinitel absorpce a c koncentrace materiálu. Samotný Beerův zákon uvádí, že absorpce monochromatického světla v roztoku je za jinak konstantních podmínek exponenciální funkcí koncentrace rozpuštěné barevné látky.

Tyto dva zákony mohou být kombinovány do jedné rovnice, která zahrnuje jak tloušťku, tak koncentraci materiálu. Tato rovnice se nazývá Lambertův-Beerův zákon

$$I = I_0 e^{-\beta c x}, \quad (9.5)$$

,kde

I =intenzita prošlého světla

I_0 =intenzita světla vstupujícího do prostředí

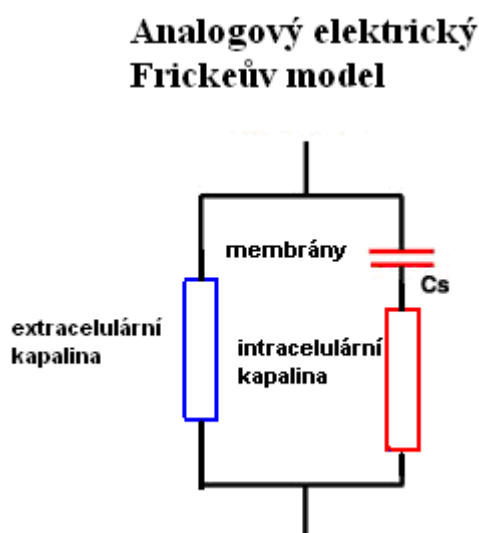
β = součinitel absorpce

c =koncentrace absorpčního materiálu

x =tloušťka vzorku. [13, 15,16]

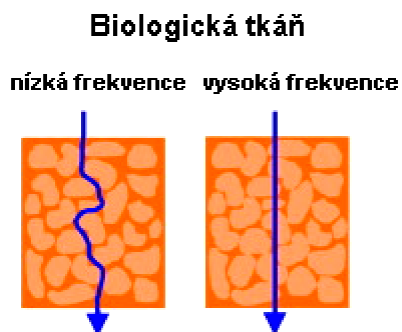
10. Frickeův model a Coleův - Coleův model

Fricke navrhl elektrický model, kde přirovnává biologické tkáňové komponenty (buňky, membrány, intracelulární (ICF) a extracelulární tekutiny (ECF)) k pasivním elektrickým prvkům (resistor, kapacitor). Model se skládá z resistoru (R_p), který zastupuje extracelulární tekutinu (ECF) a je umístěný paralelně s kapacitorem (C_s) představujícím izolační membrány v sérii odporových senzorů (R), které zastupuje intracelulární tekutinu (ICF). Toto uspořádání můžeme vidět na obrázku 10.1. Frickeův model byl široce používán ke kvantifikaci buněk nebo mikroorganismů v suspenzi v kapalném prostředí, a může být také použit v homogenních médiích. [10, 13]



Obr. 10.1. Frickeův model tkáně

Tento model popisuje měření impedance na nižších frekvencích (většina toků), což jsou toky kolem buněk (nemohou proniknout dovnitř). A u vyšších frekvencí ztrácejí membrány izolační vlastnosti a proud prochází současně oběma prostory (extracelulárním i intracelulárním) (viz. obr. 10.2.).



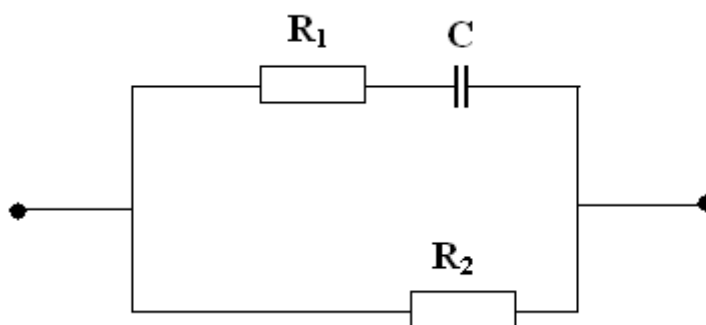
Obr. 10.2. Elektrický proud protékající tkání

10.1. Coleův-Coleův model

Kenneth Stewart Cole a jeho syn Roger Braley Cole navrhli elektrický model tkáně, který byl úspěšně používán k popisu experimentální dielektrické konstanty mnoha materiálů. Dielektrická konstanta je závislá především na čtyřech parametrech: na statické dielektrické konstantě ϵ_0 , dielektrické konstantě v nekonečné frekvenci ϵ_∞ , relaxačním čase τ a parametru α . V zásadě platí, že ϵ_0 a ϵ_∞ lze experimentálně měřit a u časové konstanty a parametru α musí být zachován jejich nastavitelný parametr.

Coleův-Coleův model byl úspěšně aplikován na širokou škálu tkání v průběhu 60 let, ale neposkytuje žádné základní informace o skutečných výsledcích tohoto měření.

Tkáň může být modelována jako elektrický obvod s odporovou a kapacitní složkou, což můžeme vidět na obrázku 10.3.

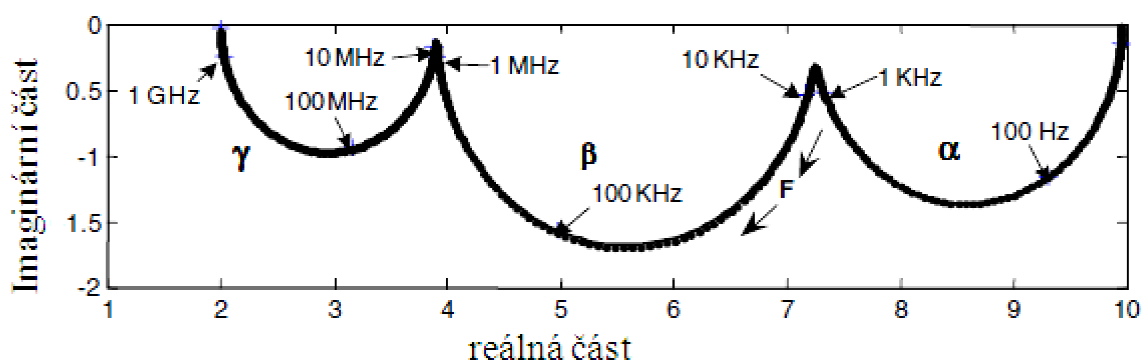


Obr. 10.3. Coleův – Coleův model tkáně

Coleova- Coleova rovnice relaxačního modelu:

$$\varepsilon^*(\omega) - \varepsilon_\infty = \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{1 + (i\omega\tau)^{1-\alpha}} \quad (10.1)$$

,kde ε^* je komplexní permitivita, ε_s a ε_∞ jsou statické a nekonečné frekvence dielektrické konstanty, ω je úhlová frekvence a τ je časová konstanta. Parametr α , který nabývá hodnot mezi 0 a 1 umožňuje popsat různé spektrální tvary. V případě, že $\alpha = 0$, tak se Coleův – Coleův model redukuje na Debyeův model. Hypotetický Coleův - Colův graf impedance biologické tkáně zobrazující tři překrývající se disperzní rozsahy. α , β , a γ vidíme na obrázku 10.4.



Obr. 10.4. Hypotetický Coleův - Colův graf impedance biologické tkáně zobrazující tři překrývající se disperzní rozsahy. α , β , a γ [13]

10.1.1 Hodnocení ε_0 a ε_∞ z experimentálních dat

Za účelem získání přímo ε_0 a ε_∞ musí být měření provedeno při velmi nízkých a velmi vysokých frekvencích. Tím pádem ε'' zmizí a ε' inklinuje k ε_0 a ε_∞ .

Autoři uvádějí metodu, která kombinuje dva modely: Frickeův a Coleův-Coleův. Tato metoda byla vyvinuta ke sledování změny vodivosti tkáně v preferenčním směru při stárnutí masa.

10.2. Přístup modelů – Coleův-Coleův a Frickeův model

Coleův model je popsán na základě Coleova popisu (1941). Impedance Z^* je komplexní funkce střídavého proudu o frekvenci f

$$Z^* = Z_{real} + iZ_{imag}, \quad (10.2)$$

kde Z_{real} je reálná část, Z_{imag} imaginární část a $i = (-1)^{1/2}$.

Každý disperzní rozsah (např. b-disperze), může být převeden na Coleovu-Coleovu rovnici

$$Z^* = R_{\infty} + \frac{(R_0 - R_{\infty})}{1 + (i\omega\tau)^{1-\alpha}}, \quad (10.3)$$

kde $\omega = 2\pi f$, R_0 a R_{∞} jsou impedance při velmi nízkých a velmi vysokých frekvencích. τ je časová konstanta a exponent $\alpha \in (0-1)$ je konstanta, která upravuje kapacitní chování membrány kvůli dielektrickým ztrátám a ukazuje, jaké bude rozložení (distribuce) a rozptyl (disperze) impedance. Záměrem Coleů bylo podle tohoto modelu vytvořit komplexní Nyquistovu rovinu. Impedance tvoří půlkruhový oblouk, který se nachází pod reálnou osou. Standardní způsob, který umožní zjednodušit výklad o modelování těchto jevů, vyžaduje zvážit složení biologické tkáně, což je více nebo méně homogenní suspenze buněk v ionizované kapalném prostředí.[10, 13, 36]

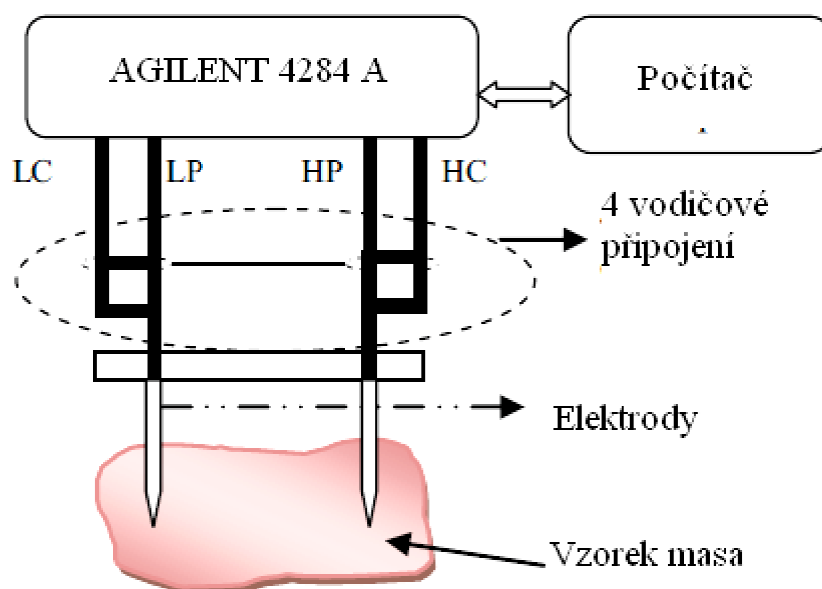
Předložený Frickeův model je možné zkombinovat s Coleovým-Coleovým modelem při studiu stárnutí masa. Na základě Frickeova modelu budou mít parametry v Coleově-Coleově rovnici tvar:

$$\tau = (R_s + R_p)C_s, \quad R_0 = R_p, \quad R_{\infty} = \frac{R_p R_s}{R_p + R_s}. \quad (10.4)$$

11. Elektrické měření

Cílem našeho měření bylo pozorování změny impedance na kmitočtu elektrického signálu při postupném stárnutí kuřecího masa po dobu 4 dnů v 12hodinovém intervalu. Počáteční měření začalo jeden den po porážce kuřat, abychom se maximálně přiblížili normálním podmínkám prodeje chlazené drůbeže. Z kuřecích prsíček byla odstraněna kůže a byly z nich nařezány plátky o tloušťce 1 cm. Biologická tkáň, zejména maso má anizotropní impedanci, impedance se liší podle toho, zda proud probíhá rovnoběžně nebo kolmo na svalové vlákno, proto byly vzorky masa nařezány podle orientace vláken (rovnoběžná nebo kolmá k měřicím elektrodám). Měření bylo prováděno pomocí elektrod z nerezového drátku o průměru 0,5 mm. Elektrody byly zapíchnuty do masa v různých hloubkách (2 mm a 6 mm) a byly od sebe vzdáleny v různých vzdálenostech (1, 2, 3, 4 a 6 cm). Vzorky masa byly měřeny při pokojové teplotě ($t = 23^{\circ}\text{C}$), chlazené v lednici ($t = 5^{\circ}\text{C}$) a zmražené ($t = -18^{\circ}\text{C}$). Měření bylo provedeno impedančním analyzátelem HP 4284A, který byl pomocí čtyřvodičového připojení sveden do dvouvodičového měřicího adaptéru Agilent 16089C. Na konci dvouvodičového adaptéru byly svorky, které jsme připevňovali na jednotlivé elektrody. Celou měřicí techniku můžeme vidět na obrázku 11.1. Hodnoty nasnímané impedančním analyzátelem byly převedeny pomocí programu v Matlabu přímo do excelu, kde jsou pak zpracovány.

[32, 33, 37, 38]



Obr. 11.1. Impedanční analyzátor a zapojení měřicí techniky [33]

11.1. Rychlost stárnutí vzorku při různých teplotách

Vzorky masa byly měřeny při různých teplotách ($t = 23\text{ }^{\circ}\text{C}$, $5\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$). Chlazení a zmrazování masa patří mezi nejdůležitější metody uchovávání masa. Konzervačním účinkem chlazení a zmrazování jsou omezovány chemické a fyzikálně-chemické pochody, podmíněné zejména enzymatickou a mikrobiální činností. Po dosažení určitých teplot dochází k jejich útlumu a poté k úplnému zastavení. Chlazení a zmrazování patří tedy k základním způsobům prodloužení údržnosti masa. Pokud se maso zchladí (v našem případě na $5\text{ }^{\circ}\text{C}$) činnost enzymů a mikroorganismů je jen omezena, a proto i doba údržnosti je poměrně krátká (až 4 týdny v závislosti na teplotě, relativní vlhkosti, mikrobiální kontaminaci vzduchu a na vlastnostech masa). Naproti tomu zmražením se prodlouží trvanlivost masa o několik měsíců až roků. Sníží-li se teplota masa tak, že se voda z převážné části nebo úplně promění v led, činnost mikroorganismů se zastaví a činnost enzymů se velmi podstatně omezí. Podstata konzervačního účinku chlazení a zmrazování tkví ve vlastnostech vody v potravinách.

Voda v potravinách se vyskytuje ve formě vázané a volné. Vázaná voda je přímo a pevně elektrostaticky navázaná na bílkoviny. Tato voda se vyznačuje vyšší hustotou, nepatrným tlakem par, silně sníženou chemickou reaktivitou a rozpouštěcí schopností. Snížováním teploty vzrůstá podíl vázané vody při současném úbytku volné vody. Tím se snižuje aktivita vody a možnost využitelnosti vody k zachování životně důležitých funkcí mikroorganismů, zejména rozmnožování. Voda volná je pak přímo vytékající z masa.

Zmražením masa se postupně voda mění v krystalky ledu. První krystalky obsahují pouze vodu, teprve při hlubokých teplotách vymrzá šťáva. Při $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ je celý obsah vody změněn v led. Ani mrazírenskými teplotami se nezastaví činnost mikroorganismů, pokud nejsou dostatečně hluboké. Teprve pod teplotou $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ se zastaví činnost mikroorganismů úplně a činnost enzymů se velmi podstatně omezí. [12, 24, 27, 28, 31]

11.1.1. Chlazení masa

Chlazení masa se používá k prodloužení uchovatelnosti masa, zvyšuje jeho tržnost a zároveň umožňuje žádoucí procesy zrání. Chlazení se využívá ke krátkodobému uchování masa. Správné chlazení je závislé na několika faktorech, a to zejména na teplotě, rychlosti proudění a vlhkosti chladicího vzduchu. Maso se musí zchladit nejpozději 48 hodin po porážce.

V našem případě bylo maso uloženo v chladničce a zchlazeno na teplotu $5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Z technologického hlediska se maso dělí podle jeho vnitřní teploty:

- maso teplé (vnitřní teplota masa 27°C a vyšší),
- maso vychladlé (vnitřní teplota masa 10°C a nižší),
- maso vychlazené (vnitřní teplota $0-5^{\circ}\text{C}$). [27, 31]

Rychlost zchlazení by měla být z hlediska údržnosti co možná nejvyšší, je však limitována tzv. chladovým zkrácením (cold shortening). Zkrácení svalových vláken nastává v případech, kdy teploty 10 °C bylo dosaženo dříve, než nastalo posmrtné ztuhnutí (nadměrně rychlé chlazení způsobí, že maso se stane tuhým, což je nevratné). Při nedostatečném chlazení může dojít k zapaření masa, což je závažná forma kažení.

11.1.2. Zmrazování masa

Zmrazování masa patří k nejvýhodnějším metodám dlouhodobého skladování masa, je šetrné k senzorickým vlastnostem a nutričním hodnotám masa. Zmrazování masa je výhodné, protože nedochází k rozsáhlejší mikrobiální kontaminaci, která je způsobena chlazením a další manipulací s masem. Časem zmrazování se rozumí čas, který je potřebný k redukci vstupní teploty produktu (je nad bodem mrazu), na teplotu -18 °C.

Maso se zmrazuje v několika formách:

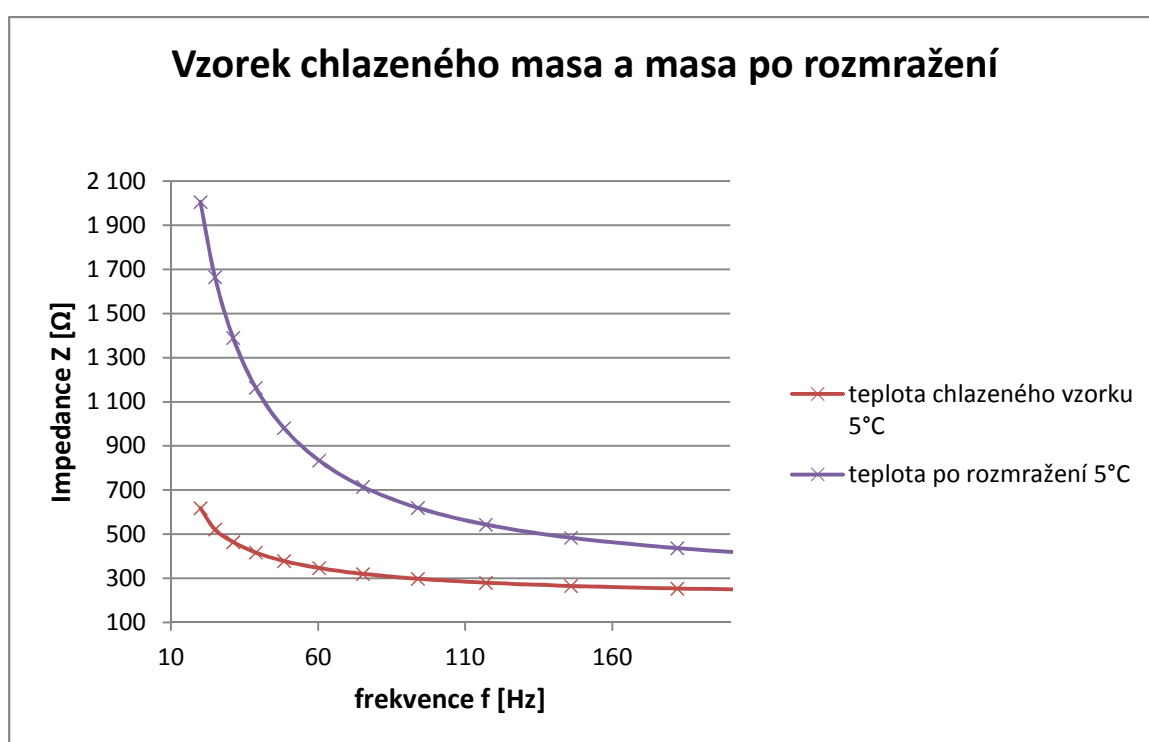
- zmrazování teplého masa,
- zmrazování chlazeného masa,
- zmrazování masa v půlkách a čtvrtích,
- zmrazování děleného masa. [12, 27]

V našem případě jsme používali klasický mrazák, který byl nastaven na teplotu -18 °C. Což je bylo pro naše účely dostačující. Zkoušeli jsme změřit vzorek masa, který byl přímo vytažený z mrazáku. Impedance tohoto vzorku byla až 15000 Ω. To je způsobeno tím, že se voda v mase z převážné části nebo úplně proměnila na led. Činnost mikroorganismů se zcela zastavila. Rapidně vzrostl podíl vázané vody a volná voda se zde vůbec nenachází.

11.1.3. Rozmrazování masa

Rozmrazování masa by mělo probíhat pozvolna při teplotách 0 až + 5 °C. Takto se dosáhne vysokého zpětného navázání vody do tkání a dochází k minimálním ztrátám masné šťávy. Po rozmrazení pokračuje na povrchu masa rozmnožování mikroorganismů, které kontaminovali povrch ještě před zmrazováním, podobně jako na povrchu masa chlazeného. Při rozmrazování především dochází k několika zásadním změnám v mase. Maso má otevřenější strukturu, poruší se svalová vlákna a nachází se zde více vody. Proto z potravinářského hlediska má rozmražené maso menší údržnost než maso chlazené. [25, 27, 31, 33]

K tomuto pokusu jsme používali dva vzorky kuřecího masa. První vzorek byl chlazený a uchovaný tři dny v ledničce a druhý vzorek byl vyndaný z mrazáku a pomalu rozmražený na stejnou teplotu jako maso chlazené. Při pokusu měly oba vzorky stejnou teplotu 5 °C, jejich impedance však byla rapidně rozdílná. Jak jsme z teoretických poznatků předpokládali, tak impedance masa chlazeného byla mnohem nižší, což je patrné na obrázku 11.2. Tato odchylka je způsobena tím, že v mase rozmraženém se nachází více vody a jsou zde porušena svalová vlákna, což způsobuje horší průchod proudu vzorkem. Dále se v tomto vzorku zvyšuje nebezpečí povrchového vysychání masa, povrchového přezrání masa i značného rozvoje mikroorganismů.

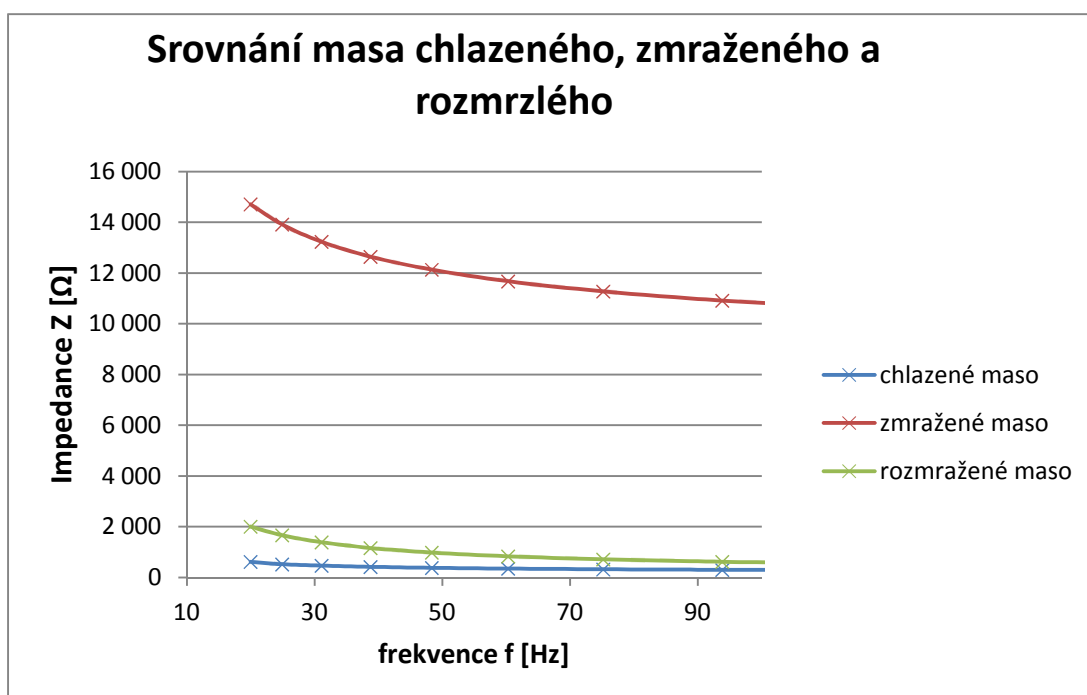


Obr. 11.2. Závislost impedance na frekvenci u chlazeného masa a masa po rozmražení

Z tohoto výsledku je patrné, že můžeme snadno rozeznat rozdíl mezi masem chlazeným a rozmraženým i přesto, že oba vzorky mají při počátečním měření stejnou teplotu. Tento poznatek by se mohl využívat v potravinářství. V mase chlazeném se nenachází tolik vody, má lepší strukturu a je pravděpodobně i chutnější.

Dále jsme srovnávali tři vzorky kuřecího masa. Chlazený, zmražený a rozmražený vzorek. Na obrázku 11.3 vidíme, že chlazené maso má nejmenší impedanci, maso po rozmražení se téměř vrátilo do normálu, ale zůstává zde ještě zbytková voda, a proto je impedance masa vyšší. Jak jsme mohli vidět na předchozím obrázku 11.2.

Nejvyšší nárůst impedance můžeme pozorovat u zmraženého vzorku. V našem případě bylo maso zmrazeno na $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, což podle tabulky 2 odpovídá přibližně 88,5 % zmražené vody v maso. Voda v maso se téměř úplně proměnila na led. Činnost mikroorganismů se zcela zastavila. Rapidně vzrostl podíl vázané vody a volná voda se zde vůbec nenachází.



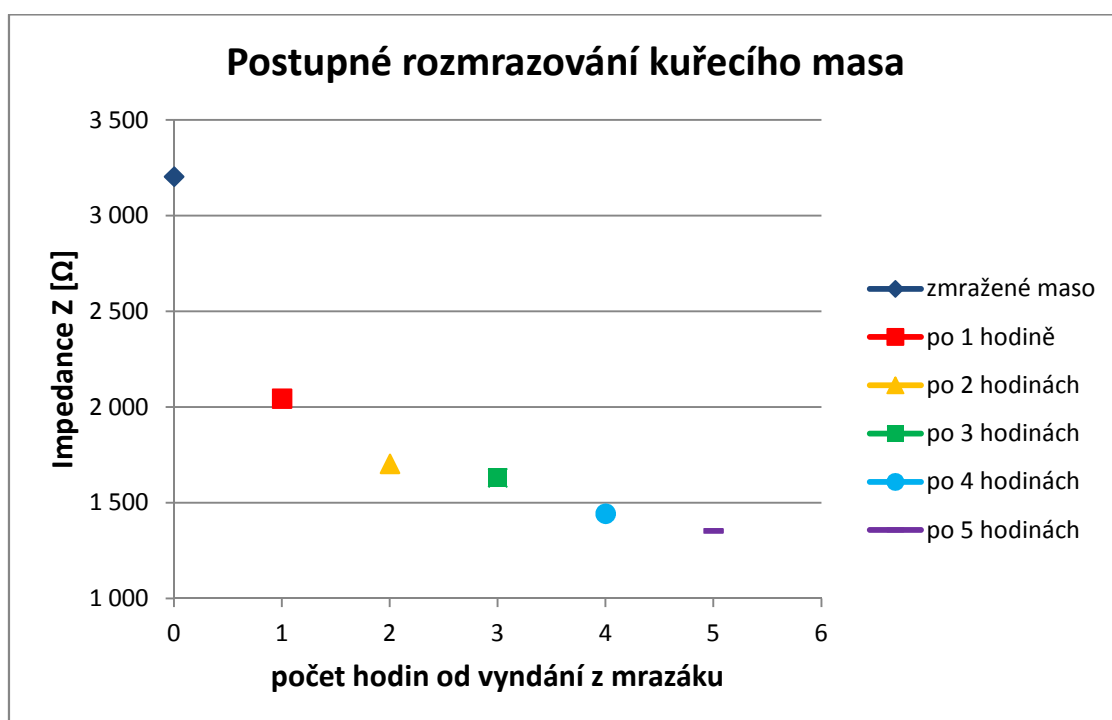
Obr. 11.3. Srovnání masa zmraženého, rozmraženého a chlazeného

Tabulka 2.: Procento zmražené vody pro různé teploty [12]

Teplota ve $^{\circ}\text{C}$	-5,0	-7,5	-10,0	-12,5	-17,5	-20,0	-25,0	-32,5	-63,0
% zmražené vody v maso	75,6	80,5	83,7	86,0	88,5	89,4	90,4	91,3	100

V dalším měření jsme měřili maso zmražené a v intervalu po jedné hodině jsme měřili jeho impedanci a zkoumali jsme postupné změny. Na obr. 11.4 vidíme, jak vzorek masa teplá, tak impedance postupně klesá. Zmražené maso mělo teplotu $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ a impedance vzorku se pohybovala kolem $3300\text{ }\Omega$. Po 5 hodinách bylo maso již úplně rozmražené a poklesla impedance o $2000\text{ }\Omega$, poslední měření vyšlo $1300\text{ }\Omega$.

Podle našich poznatků, kdybychom pokračovali v měření na povrchu masa, tak by se zvýšila činnost enzymů a mikroorganismů, snižovala by se doba tržnosti, a tudíž by impedance měla stále klesající charakter.



Obr. 11.4. Postupné rozmrazování kuřecího masa

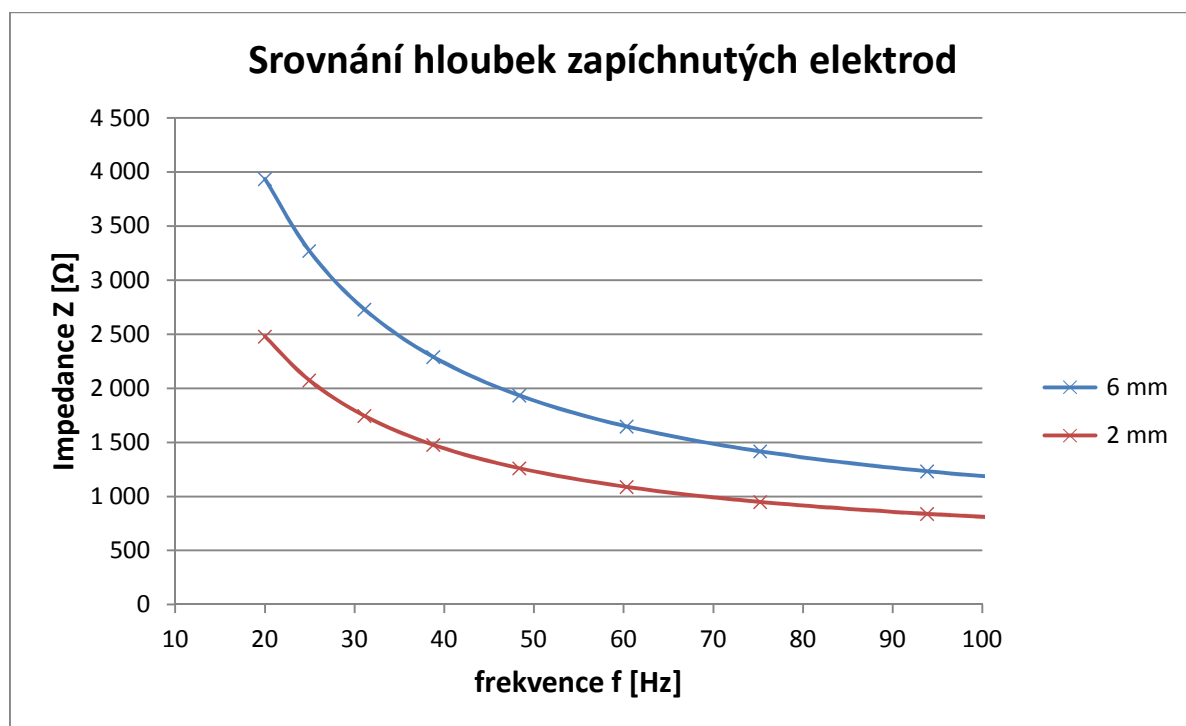
11.2. Různá hloubka zapíchnutých elektrod

Při měření byly použity 2 cm dlouhé nerezové elektrody o průměru 0,5 mm. Elektrody byly zapíchnuty do masa v různých hloubkách (2 mm a 6 mm) a měnila se jejich vzálenost (kapitola 11.4.). Na obrázku 11.5 můžeme vidět dva vzorky vepřového masa as několika elektrodami, které byly od sebe různě vzdálené a zapíchnuty v různých hloubkách.



Obr. 11.5. Různé vzdálenosti elektrod

Následující obrázek 11.6 srovnává dvě hloubky zapíchnutých elektrod (2 a 6 mm) do vzorku masa. Je vidět, že na hloubce elektrod také dost záleží. Elektroda zapíchnutá jen 2 mm od povrchu má menší impedanci, což je pravděpodobně způsobeno tím, že na povrchu maso osychá a vyskytuje se zde větší činnost mikroorganismů a enzymů. Oproti tomu u elektrody zapíchnuté hlouběji do masa je impedance vyšší, což je způsobeno tím, že uvnitř je tkáň více vodnatá a má obsahuje méně mikroorganismů, než na povrchu.



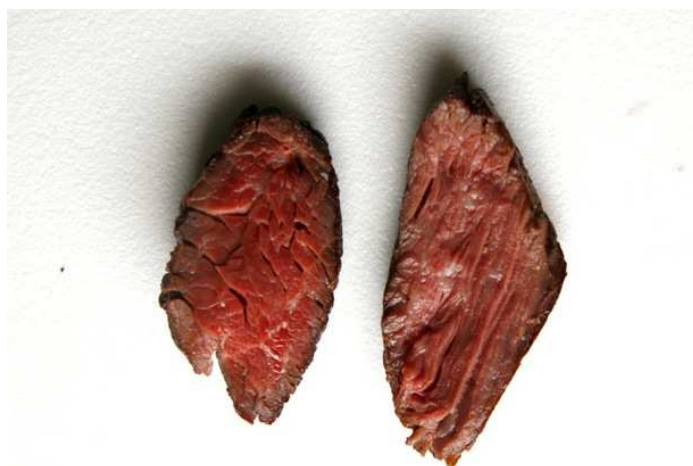
Obr. 11.6. Srovnání dvou hloubek

11.3. Rovnoběžný a kolmý řez

Svalové složky představují několik strukturálních úrovní, které mají vysoce rozdílné elektrické a dielektrické vlastnosti. Z elektrického hlediska může být maso nahrazeno dlouhými, vodivými buňkami izolovanými od sebe izolační membránou. Elektrické vedení po celé délce vlákna je jednodušší než vedení mezi vlákny extracelulárního matrixu, protože extracelulární matrix je méně vodivý než buňka samotná.

Biologické tkáně, hlavně maso, jsou anizotropní, tj. jejich impedance se mění s velikostí proudu protékajícího podélně nebo příčně svalovými vlákny. Strukturální změny masa, které nastávají během zrání před tuhnutím a po tuhnutí rozpadem bílkovin, neovlivňují jenom mechanické, ale také elektrické a dielektrické vlastnosti masa. Obzvláště během ztuhnutí při zrání dochází k rozkladu v proteinech, které produkují strukturální trhliny stejně jako rozklad svalových vláken a degradace buněčné kostry. Tyto modifikace vedou ke snížení elektrické anizotropie masa ve vztahu ke zmenšující se rezistenci svalových vláken.

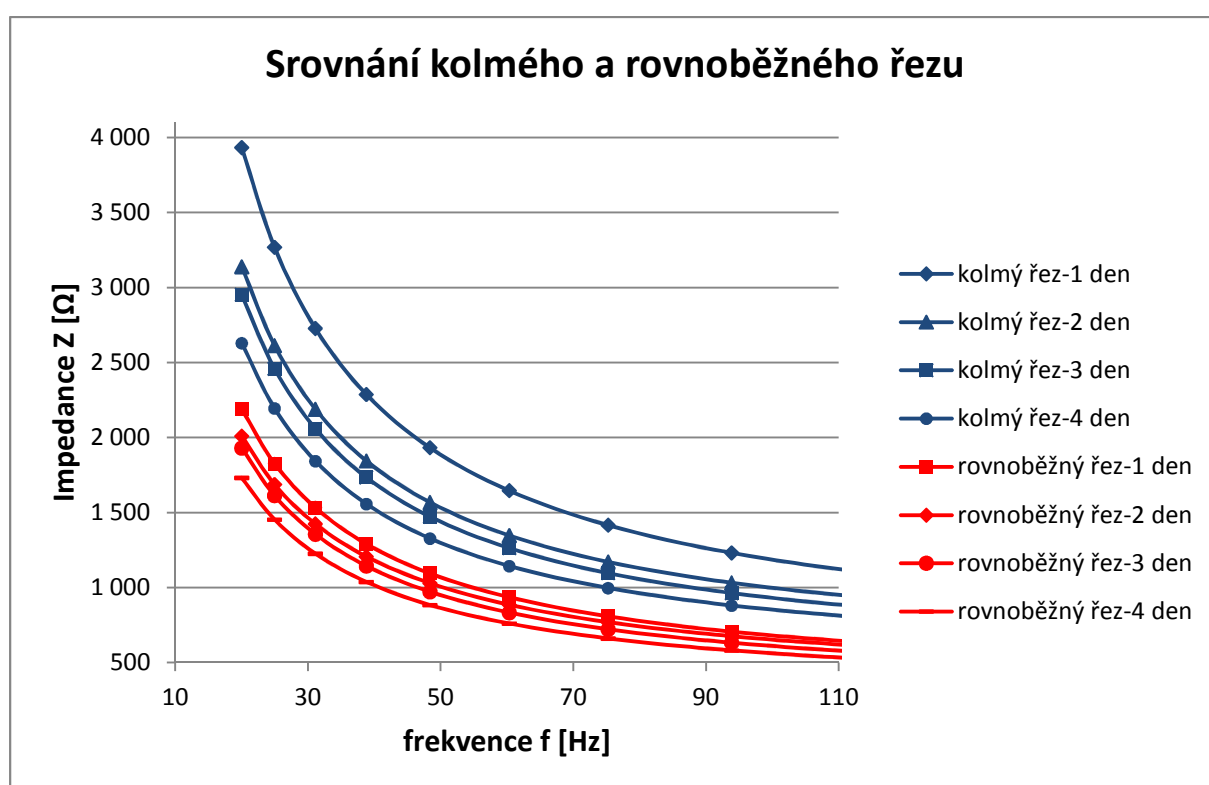
Proto se svalová tkáň projevuje silnou, elektrickou anizotropní vlastností. Podélná vodivost je výrazně vyšší než příčná vodivost. [7, 8, 18]



Obr. 11.7. Příklad vzorku kolmého na vlákna (vlevo) a rovnoběžného (vpravo) s vlákny

Cílem tohoto měření bylo dokázat, že impedance masa rovnoběžného bude nižší, protože elektrický proud se bude šířit lépe po vláknech než napříč vlákny. Na obrázku 11.8 vidíme, že impedance kolmého řezu je vyšší oproti rovnoběžnému. Tím jsme dokázali anizotropní vlastnosti biologické tkáně, a tedy, že podélná vodivost je výrazně vyšší než příčná vodivost.

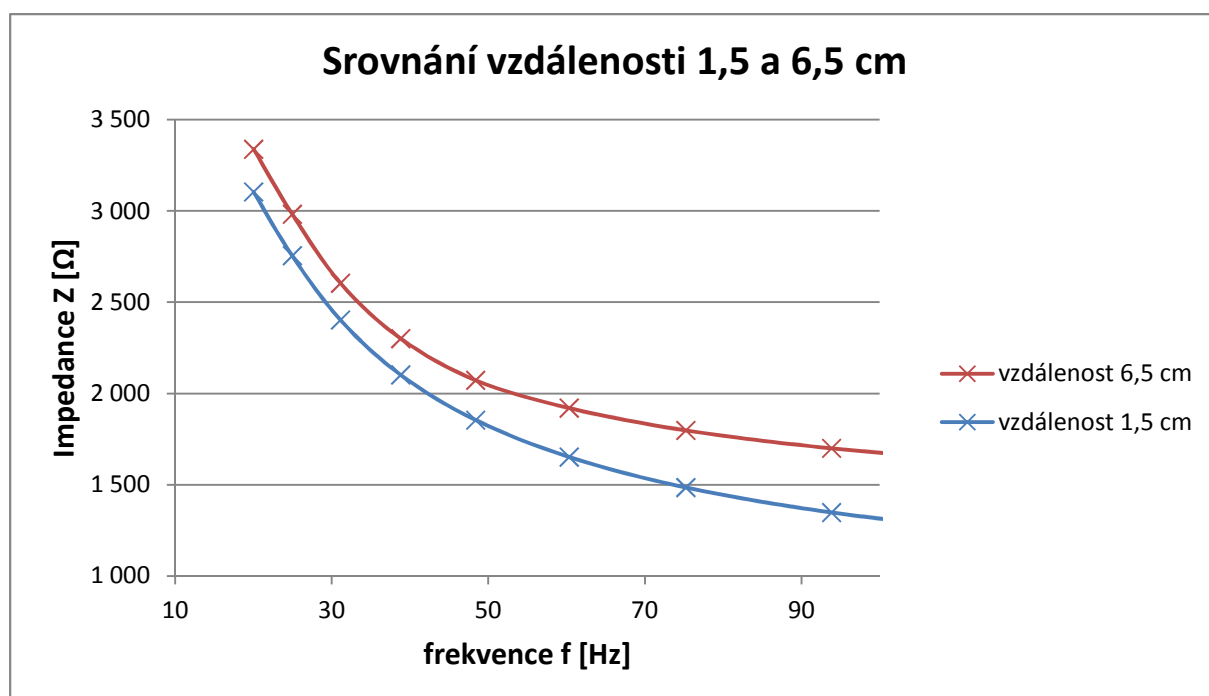
Dále z obrázku vidíme, jak se stářím vzorku impedance klesá u podélného i u příčného řezu. Při stárnutí vzorku dochází ke štěpení peptidů na oligopeptidy a aminokyseliny, rozkládají se tuky a může dojít i k mikrobiálnímu napadení. Tyto změny způsobují strukturální změny ve svalových vláknech a dochází ke snížení elektrické anizotropie masa a tím se sníží impedance.



Obr. 11.8. Srovnání kolmého a rovnoběžného řezu

11.4. Vzdálenost elektrod

V další části této práce se zaměříme na změny impedance s ohledem na rozdílné vzdálenosti elektrod. Jak již bylo řečeno v předešlých kapitolách, měření závisí na rozdílné hloubce vpichu elektrod, různých směrech řezu (podélný, příčný. Dále jsme se zaměřili na vliv vzdálenosti elektrod. Zkoušeli jsme měřit impedanci mezi bližšími elektrodami (1,5 cm) a poté mezi vzdálenějšími elektrodami (6,5 cm). Z obrázku 11.9 vidíme, že u elektrod vzdálených 6,5 cm je impedance vyšší, než od elektrod bližších (1,5 cm). Tento jev je způsobený snazším průchodem proudu mezi bližšími elektrodami.

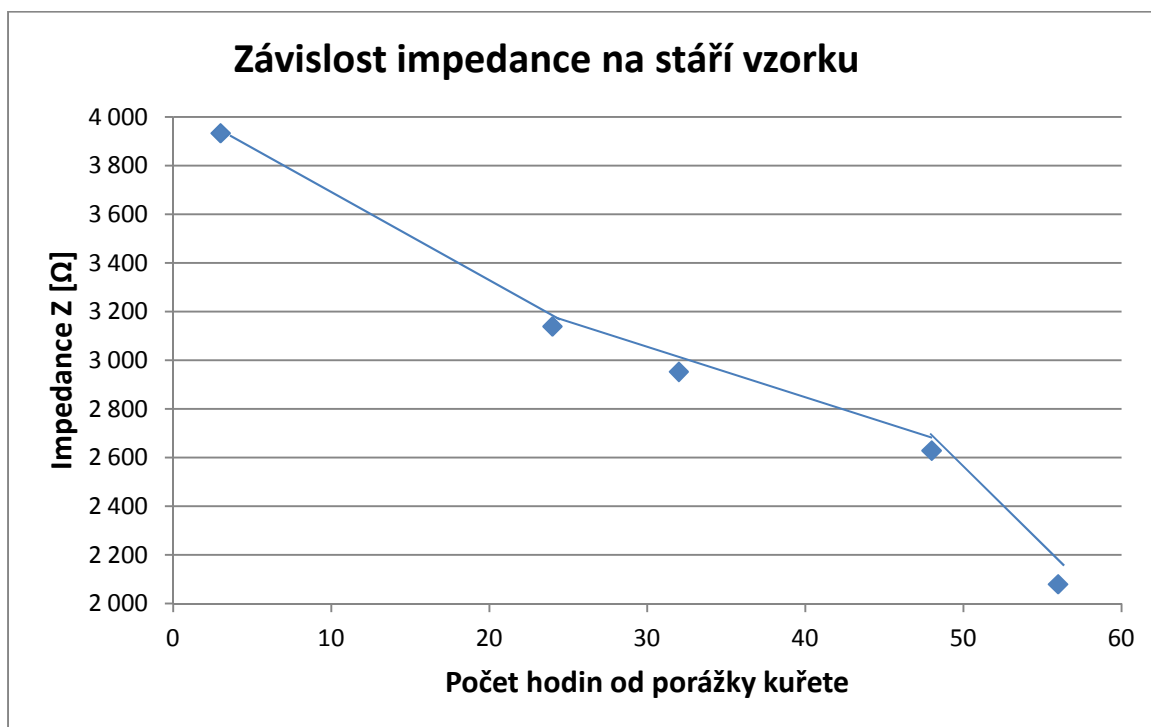


Obr. 11.9. Srovnání vzdálenosti elektrod- 1,5 cm, 6,5 cm

11.5. Závislost impedance na stáří vzorku

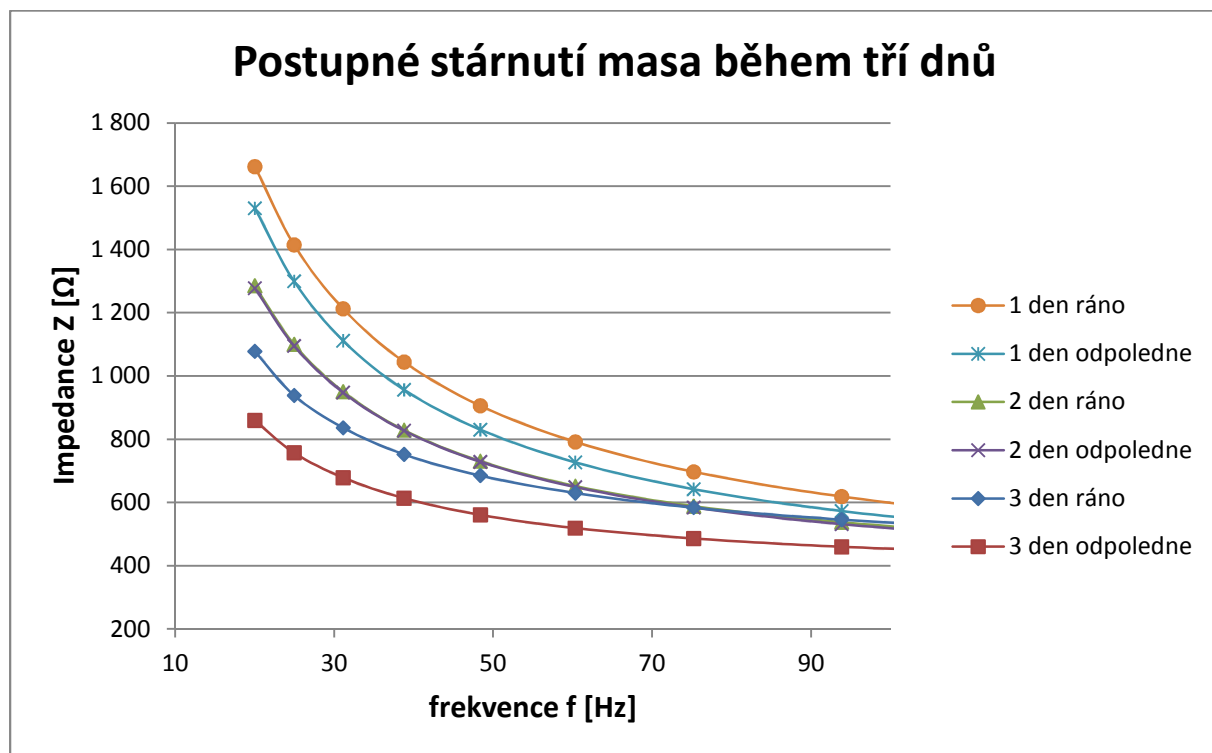
Toto měření bylo provedeno na vzorku kuřecího masa. První měření bylo provedeno 5 hodin po nákupu masa. Postupně bylo provedeno pět měření v různých intervalech.

Impedance masa se pohybuje na stupnici od 2000 do 4000 Ω . Z dostupné literatury je známé, že na začátku měření může dojít k mírnému zvýšení impedance, což může být způsobeno zduřením buněk kvůli snížení extracelulárního objemu. Tento jev v našem měření nenastal. Naopak pozorujeme (obr. 11.10) značné snížení impedance. Snížení impedance je způsobeno netěsností membránových struktur a tím snížením vodní kapacity. Dále snížení impedance může být způsobeno strukturálními změnami ve svalových vláknech a tím dochází ke snížení elektrické anizotropie masa.



Obr. 11.10. Závislost impedance na stáří vzorku

Na dalším obrázku 11.11 můžeme znovu vidět klesající impedanci, při postupném stárnutí vzorku masa tentokrát v závislosti na frekvenci. Každým dnem impedance masa klesla průměrně o 150 Ω . Jen druhý den měření se křivky téměř překrývají. Je zde možná chyba měření, způsobená rychlým měřením po sobě.



Obr. 11.11. Graf postupného stárnutí masa v závislosti impedance na frekvenci

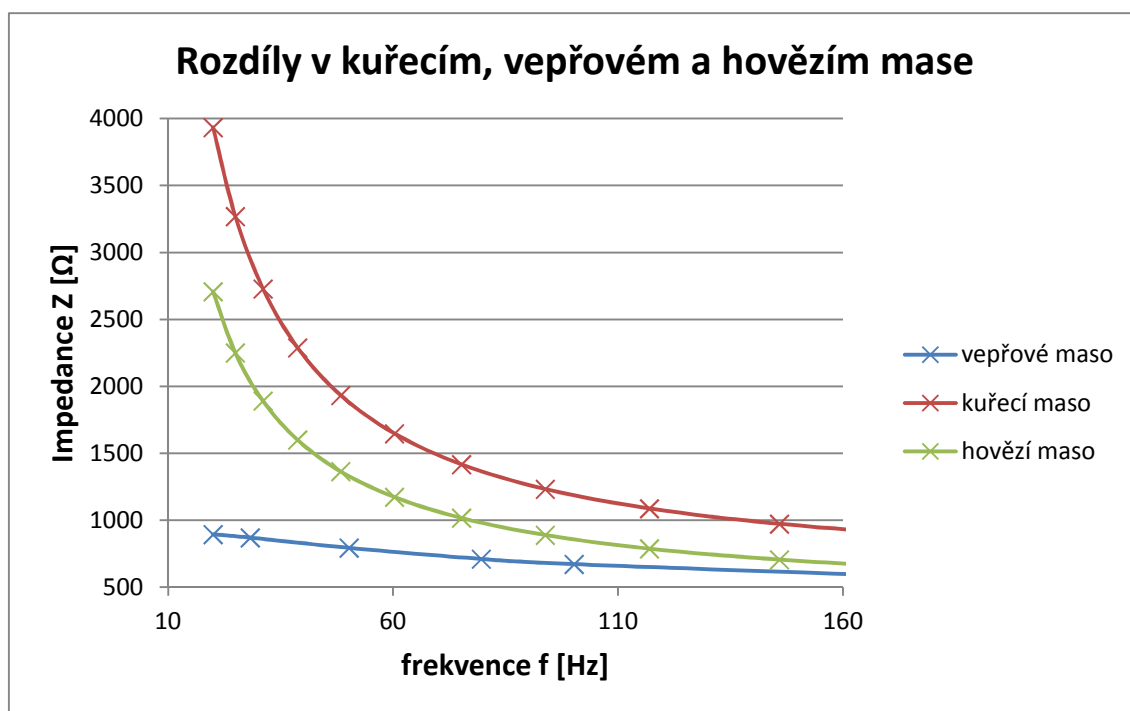
11.6. Experiment s jinými druhy masa

V předchozím měření bylo měření prováděno pouze pro jeden druh biologického vzorku, kterým bylo kuřecí maso z prsíček. V další části své práce jsem se zaměřila na zkoumání impedance vepřového, kuřecího a hovězího masa. V jednotlivých druzích masa jsou rozdíly. K měření jsem převážně používala drůbeží maso z důvodu toho, že v porovnání s masem jatečných zvířat má ve svalovině méně vaziva, je jemně vláknité a dobře vede proud. Kuřecí maso obsahuje málo tuku (5 % váhy), ale hodně vody (68-75 %). Proto hodnoty impedance čerstvého masa jsou s porovnáním s ostatními velice vysoké.

Maso hovězí patří biologicky k nejhodnotnějším masům. Obsahuje 19 % bílkovin, 5-6 % extraktivních látek, průměrně 5-8 % tuku a 70 % vody. Hovězí maso je pro lidský organismus bohatým zdrojem biologicky hodnotných bílkovin, některých esenciálních prvků a vitamínů. Impedance čerstvého masa začíná u 3300 Ω . O hovězím masu se v poslední době dost mluvilo v souvislosti s BSE (boviní spongiformní encefalopatie – nemoc šílených krav). Ta byla s velkou pravděpodobností způsobena přikrmováním masokostní moučkou. Bylo by velice zajímavé takové maso změřit impedančním analyzátozem. Z teoretického hlediska by pak impedance masa byla mnohem nižší než u zdravého masa. To by bylo pravděpodobně způsobeno menším obsahem vody a větším obsahem tuku a bílkovin v masu. To je však pouze domněnka, kterou nebylo možné vyzkoušet při reálném měření.

Dále je dnes velmi diskutovaným tématem koňské maso a je možné, že by tato metoda mohla ukázat rozdílnost mezi hovězím a koňským masem. Na oko by rozdíl mezi těmito druhy „laik“ nepoznal, avšak jejich chemické složení a struktura svalových vláken je odlišná, proto by teoreticky i impedance vycházela odlišně. Bohužel toto měření jsem neprovedli, tudíž jsou to jen předpoklady.

Vepřové maso je jemně vláknité růžové až světle červené a jeho svalovina je prorostlá tukem, obsahuje 20 až 40 % tuku. Vzhledem k obsahu tuku má vepřové maso vyšší energetickou hodnotu a je tím také hůře stravitelné. Ve svalovině se nachází hodně vaziva a masem tak proud neprochází tak dobře jako u kuřecího masa. Proto je impedance masa dost nízká s porovnáním s masem kuřecím a hovězím. Samozřejmě záleží také na tom, čím je zvíře krmeno. Maso prasat krmených mlékem má světlejší barvu a velmi jemná vlákna a proud tímto masem by protékal lépe než u masa starších kusů, jejichž maso je tuhé a vlákna jsou hrubá a barva tmavočervená. [12, 19, 21, 27, 31]



Obr. 11.12. Graf rozdílnosti v mase kuřecím, vepřovém a hovězím

Bylo by velice zajímavé touto metodou zkoumat, o jaký druh mase se jedná, avšak tato metoda nezahrnuje všechny aspekty. Každá část masa je jiná a má různé chemické složení. Dále také záleží na tom, čím je zvíře krmeno. Výsledky jsou zajímavé, ale bohužel se nemohou brát jako směrodatné pro všechny vzorky.

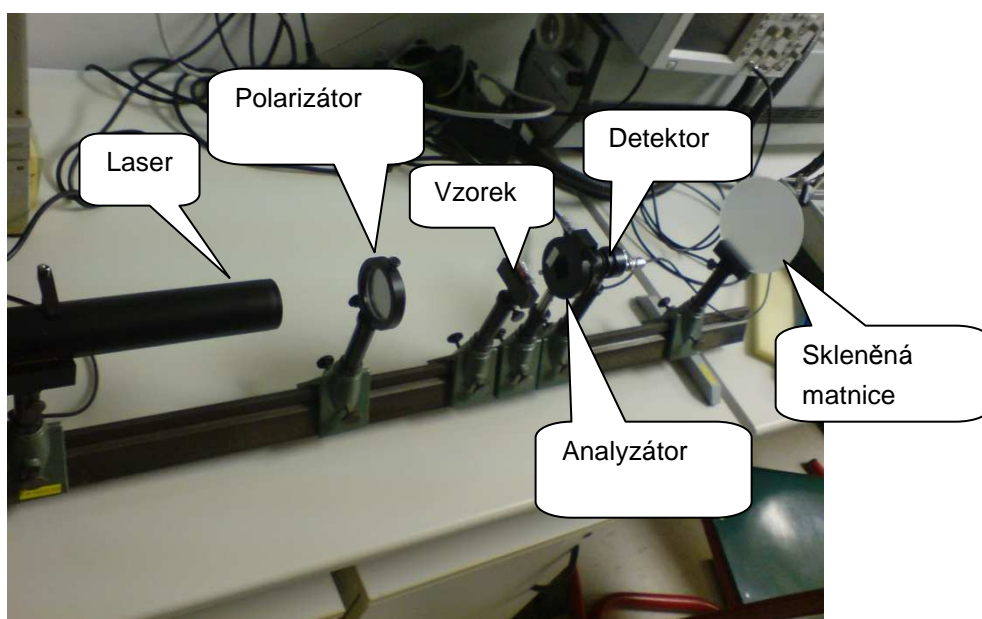
Každý vzorek masa by se také pravděpodobně pohyboval v jiném impedančním pásmu. A při měření by se muselo brát v úvahu mnoho aspektů, což je téměř nereálné.

12. Návrh experimentální metody měření rozptylu světla objemového vzorku tkáně

V další části práce jsme, pro porovnání různých metod, měřili vybrané optické charakteristiky, zejména intenzitu světla odraženého vpřed a zpětně od biologického vzorku a změnu jeho polarizačního stavu v důsledku rozptylu ve vzorku. Vzorky biomateriálu byly stejné jako v předchozí metodě. U optického měření jsme však používali pouze vzorky vepřového masa.

12.1. Realizace optické sestavy senzoru

Vzhledem k tomu, že biologická tkáň, v našem případě vzorek masa, propouští výrazně červené a infračervené záření, byla optická sestava senzoru realizována pomocí laseru (polovodičový červený laser $\lambda = 635 \text{ nm}$), dvou polarizačních filtrů – polarizátorem a otočného analyzátoru – a germaniového fotodetektoru. Vzorek byl při měření umístěn mezi polarizátorem a analyzátozem (obr. 12.1). [16, 22]



Obr. 12.1. Realizace optické sestavy [22]

12.2. Metoda měření

Cílem tohoto měření bylo pozorování změny stavu polarizace světla při interakci s biologickým vzorkem. Tento vzorek byl vystaven zrychlenému stárnutí. V našem případě jsme použili několik vzorků vepřového masa, který jsme nechali v pokojové teplotě 26 °C.

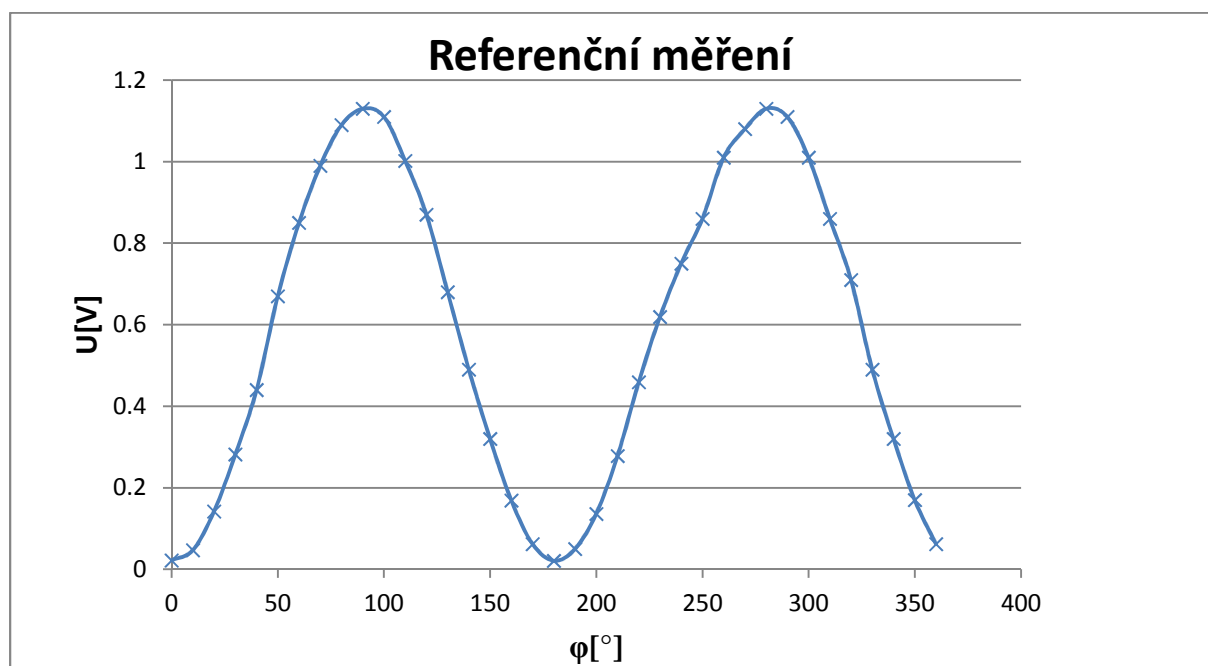
Při pokusu jsme pozorovali, jak velká intenzita světla prošla vzorkem v závislosti na měnící se polarizaci světelného svazku. Dále jsme chtěli zjistit, jak se projeví nebo změní interakce světla, když necháme biologický vzorek „zestárnout“ o jeden den. Při měření byla použita konfigurace zdroj – vzorek – polarizační destička (analyzátor) – Ge detektor spojený s voltmetrem. Vyzařované lineárně polarizované ze zdroje (polovodičový červený laser $\lambda = 635 \text{ nm}$) dopadalo na vzorek (tenká vrstva masa o tloušťce 2 mm). Průchodem světla vzorkem došlo k depolarizaci (původně lineárně polarizované světlo se změnilo na lineárně a kruhově polarizované). Toto depolarizované záření bylo analyzováno natáčením druhé polarizační destičky v rozsahu $0^\circ - 360^\circ$ po 10° . Vzorek se nechal postupně stárnout a měření jsme opakovali každých 12 hodin po dobu tří dní.



Obr. 12.2. Schéma měřících sestav pro optické měření

12.2.1. Referenční měření

První referenční měření jsme provedli s cílem optimalizovat nastavení celé optické soustavy. Postupně jsme otáčeli analyzátozem o 10° v rozsahu 0° - 360° a měřili jsme intenzitu prošlého světla a dopadajícího na germaniový fotodetektor. Vzhledem k tomu, že dosažené výsledky odpovídaly přibližně Malusovu zákonu usoudili jsme, že je soustava správně nastavena a začali jsme měřit.

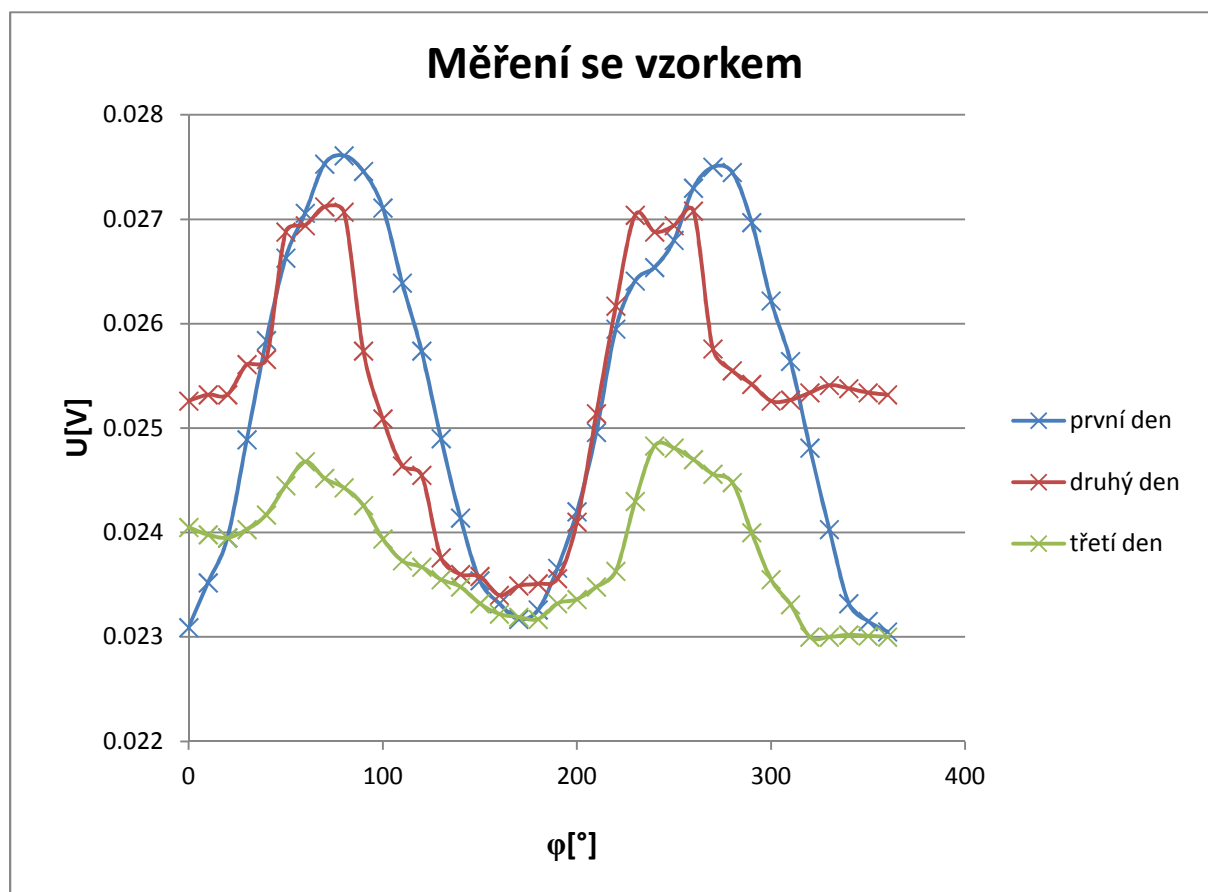


Obr. 12.3. Nastavení optické sestavy

12.2.2. Měření se vzorkem

Po referenčním měření, které je nutné pro nastavení výchozích hodnot senzoru, jsme realizovali měření na vlastním biologickém vzorku, který vykazuje podstatně komplexnější povahu než dokonalý difuzor ve formě skleněné matnice. Jako vzorek jsme použili tenký plátek čerstvého vepřového masa o tloušťce 2 mm. Řez vzorku byl proveden rukou, bez nějakých přesnějších metod. Vytvořili jsme dva vzorky, přičemž první byl uříznut kolmo na svalová vlákna a tedy i tkáňové buňky, druhý řez byl orientován rovnoběžně s vlákny. Na těchto vzorcích jsme provedli dva základní typy měření: se vzorkem, jehož vlákna byla orientována rovnoběžně se směrem polarizovaného světla a se vzorkem s vlákny kolmo na směr polarizovaného světla). Měření proběhla s vloženým polarizačním filtrem i bez něj. Vycházeli jsme z teoretických předpokladů, že samotný laser vyzařuje již polarizované světlo. Navíc jsme tím chtěli dosáhnout nižšího útlumu intenzity prošlého světla.

Vzhledem k tomu, že cílem měření bylo zjistit, zda je možné metodu aplikovat na zjišťování stárnutí masa, proběhlo prvotní měření na čerstvých vzorcích a poté jsme nechali vzorek zestárnout o jeden den, abychom zjistili změny, způsobené odpařováním vody z buněk. Vzorek jsme nechali volně položený na vzduchu, bez jakýchkoliv ochranných prostředků. Teplota okolního prostředí byla 26 °C. Tím jsme dosáhli akcelerovaného stárnutí vzorku.



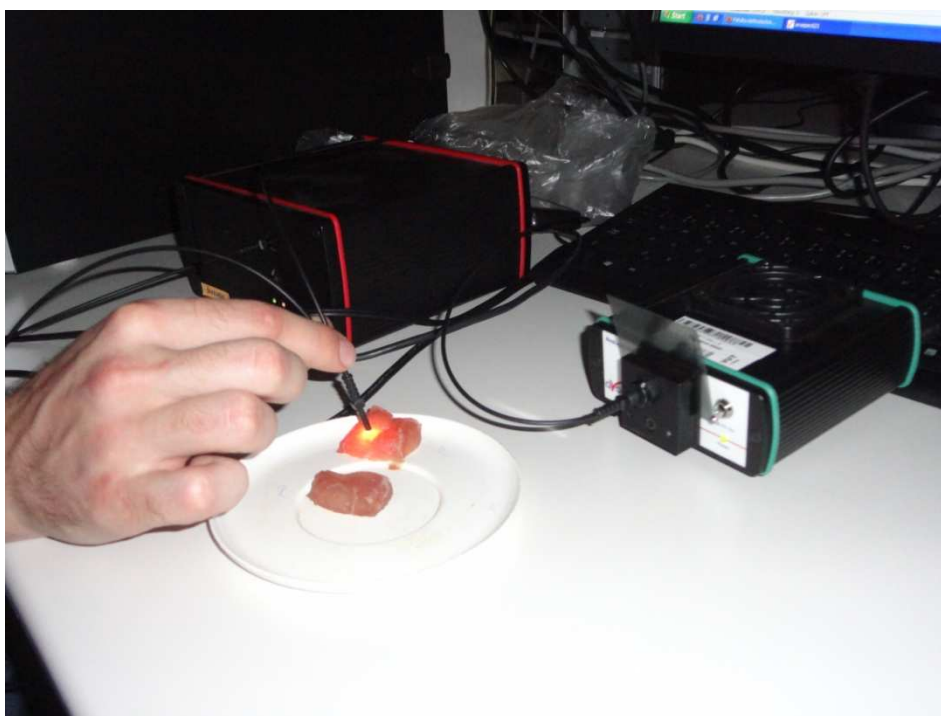
Obr. 12.4. Měření vzorku během tří dnů

Z obrázku 12.4 vidíme, že když necháme vzorek o jeden den zestárnout, změní se jeho rozptylové a polarizační vlastnosti. Na stárnoucím vzorku je patrný pokles maximálních energetických hodnot, zatímco minimální energetické hodnoty se zvýšily. Tzn., že vlivem odpařování vody z buněk dochází ke snížení amplitudy světla. Výraznou změnu můžeme pozorovat u vzorku měřeného třetí den. Maximální energetické hodnoty se rapidně snížily. Také se změnilo orientace maxima polarizace. U čerstvého vzorku bylo maximum kolem 80°, zatímco u den starého vzorku je maximum nevýrazné kolem 70° - 80°. A u třetího měření je maximum 60°. Můžeme tedy říct, že postupným stárnutím vzorku se odpařuje voda z buněk a pomalu dochází ke snížení amplitudy světla. A mění se stáčení polarizační roviny. Čím je vzorek starší, tím je maximum polarizace menší.

12.3. Měření odrazivosti světla

Dále jsme měřili odraz světla od biologické tkáně. K tomuto měření jsme používali vzorek kuřecího masa, který jsme měřili každých 12 hodin. Měření proběhlo s vloženým polarizačním filtrem. Měřicí aparaturu můžeme vidět na obrázku 12.5.

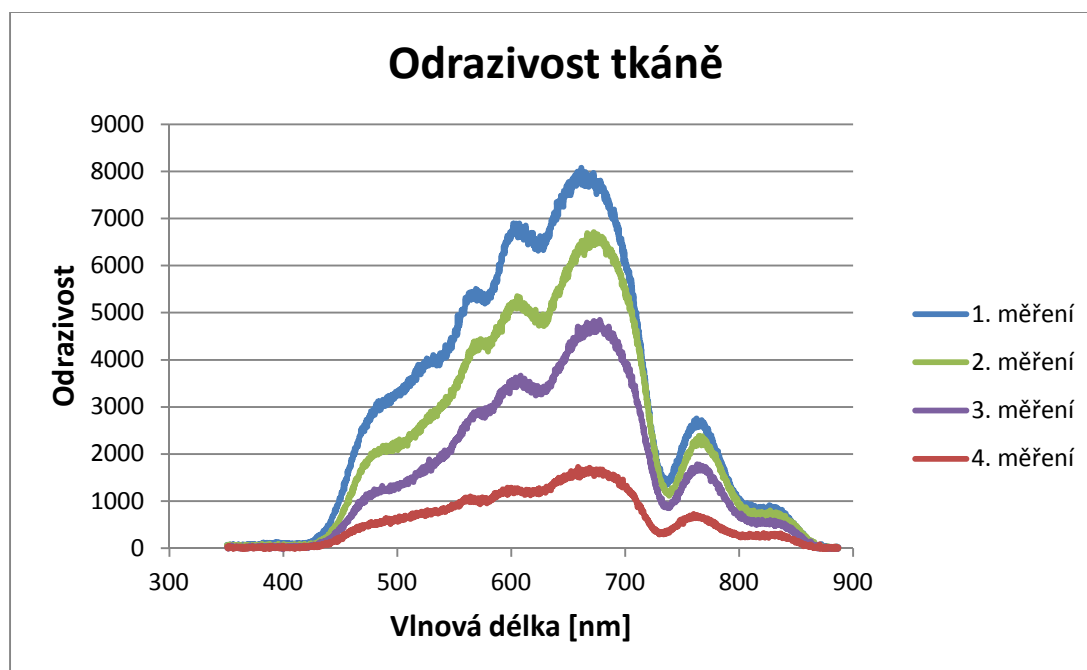
K měření bylo použito viditelné záření. Toto elektromagnetické záření se pohybuje na vlnových délkách od 400 – 750 nm. Viditelné světlo je charakteristické svítivostí (amplitudou), barvou (frekvence) a polarizací (úhel vlnění). Frekvence viditelného světla se pohybuje od $3,9 \cdot 10^{14}$ Hz až $7,9 \cdot 10^{14}$ Hz.



Obr. 12.5. Schéma měřicí sestavy pro měření odrazu světla

Z obrázku 12.6 vidíme, že když necháme vzorek postupně o 12 hodin zestárnout, změní se jeho odrazové vlastnosti. Na stárnoucím vzorku je vidět klesající útlum tkáně. Maximální vlnová délka zůstává u všech tří měření přibližně stejná a to kolem 660 nm.

Vlivem odpařování vody z buněk dochází ke snížení amplitudy, zhoršuje se odrazivost od tkáně. Čím je vzorek starší, tím je odraz od tkáně horší.



Obr. 12.6. Graf odrazivosti při postupném stárnutí vzorku

13. Porovnání optické a elektrické metody

Z našich elektrických i optických výsledků je zřejmé, že pomocí obou metod lze určit stáří dielektrického vzorku v průběhu optimálního stárnutí či zrání masa. U elektrického měření jsme zjistili, že impedance vzorku klesá s dobou stárnutí masa a tento pokles je nejstrmější při nízkých kmitočtech do 100 Hz. Měření jsme prováděli do 1M Ω . Avšak při vyšších kmitočtech dosahují závislosti velmi nízkých, statisticky nevýznamných hodnot. Při stárnutí vzorku dochází ke štěpení peptidů na oligopeptidy a aminokyseliny, rozkládají se tuky a většinou dochází k mikrobiálnímu napadení. Tyto změny způsobují strukturální změny ve svalových vláknech a dochází ke snížení elektrické anizotropie masa a tím se snižuje impedance. Toto měření jsme provedli na různých typech masa (kuřecí, vepřové, hovězí). U všech zmíněných druhů masa impedance vzorku klesá s dobou stárnutí, avšak jejich impedance rozsahy jsou odlišné. Což může být způsobeno odlišnou strukturou a rozdílným obsahem vaziva v tkáni. Měření jsme prováděli opakovaně, vždy jsme provedli čtyři měření a výsledky byly stejné, nebo alespoň z velké části podobné. Tudíž můžeme říct, že naše výsledky jsou statisticky významné.

U optického měření jsme zjistili, že u vzorků se mění rozptylové a polarizační vlastnosti. Vyzařovaného světla prochází tenkým vzorkem masa a dochází k předvídané depolarizaci. Původně lineárně polarizované světlo se změní na lineárně a kruhově polarizované. Biologický vzorek postupně vysychá a snižuje se obsah vody v buňkách. To způsobuje pokles lineární polarizace a zvýšení kruhové polarizace. Jedním z nejdůležitějšího poznatku optického měření je, že v důsledku stárnutí vzorku se objevuje měřitelný posun maxima prošlého polarizovaného světla, dochází k poklesu maximálních energetických hodnot, zatímco minimální energetické hodnoty se zvyšují. Tzn., že vlivem odpařování vody z buněk dochází ke snížení amplitudy světla. Tento posuv je přibližně 10° za 24 hodin. U čerstvého masa byla maximální polarizace 80 °, druhý den 70 °, třetí den 60°. Pravděpodobně by se maximální polarizace dále snižovala. Tento jev by mohl být vhodným prostředkem k diagnostice čerstvosti biologických vzorků.

Dále jsme se zabývali odrazem světla od vzorku masa. U stárnoucího vzorku tkáň se postupně mění jeho odrazové vlastnosti. Na stárnoucím vzorku je vidět klesající útlum tkáně. Maximální vlnová délka zůstává u všech tří měření přibližně stejná a to kolem 660 nm. Dokázali jsme, že vlivem odpařování vody z buněk dochází ke snížení amplitudy, výrazně se zhoršuje odrazivost od tkáně.

V dalším měření jsme dokazovali, že svalová tkáň je silně anizotropní a tudíž podélná vodivost je výrazně vyšší než příčná vodivost. Impedance biologické tkáně by se podle předpokladů měla měnit s velikostí proudu protékajícího podélně nebo příčně svalovými vlákny. Naše výsledky dokázaly, že impedance masa rovnoběžného je nižší, protože elektrický proud se lépe šíří po vláknech než napříč vlákny. Toto měření vyšlo opakovaně stejně a vždy byla impedance kolmého řezu rapidně vyšší než impedance rovnoběžného řezu.

U optického měření jsme také vytvořili dva vzorky (kolmý na svalová vlákna a rovnoběžný s vlákny). Na těchto vzorcích jsme provedli dva základní typy měření: se vzorkem, jehož vlákna byla orientována rovnoběžně se směrem polarizovaného světla a se vzorkem s vlákny kolmo na směr polarizovaného světla. Měření při kolmé orientaci vláken vzorku na směr polarizovaného světla ukázalo, že při použití polarizačního filtru se vliv zestárnutí vzorku o jeden den takřka neprojevil a změny jsou téměř nulové. Bez použití tohoto filtru je sice patrné snížení prošlé energetické hladiny, ale informace nejsou konkrétní. Toto měření nemělo dostatečnou vypovídací hodnotu.

K měření jsme používali vzorky kuřecího masa s různými teplotami. Z teoretických poznatků jsme předpokládali, tak impedance masa chlazeného bude mnohem nižší než masa zmrazeného a masa rozmrazeného, tento předpoklad jsme také dokázali. Výsledek je způsoben tím, že v mase rozmraženém se nachází více vody a jsou zde porušena svalová vlákna, což způsobuje horší průchod proudu vzorkem. Dále se v tomto vzorku zvyšuje nebezpečí povrchového vysychání masa, povrchového přezrání masa i značného rozvoje mikroorganismů.

U elektrického měření vzorku, jsme dále měřili vzdálenost elektrod, hloubku zapíchnutých elektrod. Naše výsledky dokázaly, že na hloubce i vzdálenosti elektrod záleží. U elektrody zapíchnuté pouze 2 mm do masa je impedance nižší, oproti elektrodě zapíchnuté hlouběji do masa. Na povrchu maso osychá a vyskytuje se zde větší činnost mikroorganismů, na rozdíl od vnitřku tkáně, který je více vodnatý a obsahuje méně mikroorganismů. A tudíž můžeme říct, že impedance vzorku klesá s dobou stárnutí masa. U vzdálenějších elektrod je impedance vyšší, než od elektrod bližších. Tento jev je způsobený snazším průchodem proudu mezi bližšími elektrodami.

Poslední elektrické měření bylo věnováno rozdílnosti různých typů masa. Každá část masa má jinou strukturu a je méně, či více vláknitá, což ovlivňuje výsledky měření. Tudíž nemůžeme toto měření považovat za významné a vypovídající.

Z výsledků je těžké posoudit, která metoda je pro měření stáří masa vhodnější. Každá metoda má své klady i zápory. Zkoumání obou těchto metod by mohlo vést k diagnostice čerstvosti biologických vzorků. Optická měření ukázala velmi dobré výsledky v případě vláknové struktury (až 90% úspěšnost odhadu), bohužel nebyla příliš úspěšná u homogenních vzorků. Naopak elektrická metoda je mnohem účinnější u homogenních vzorků a u vláknitých vzorků vykazuje více chyb a není tak průkazná. Z tohoto důvodu by bylo nejlepší obě metody kombinovat.

Závěr

V první části této práce je popsán přehled metod charakterizující stárnutí masa. Zaměřujeme se na postmortální procesy v mase. Ty jsou ovlivňovány četnými faktory a jsou proto velmi rozmanité z hlediska rychlosti, intenzity a výsledného projevu. Rozhodují o aktuální jakosti masa a jejich kvalifikované posouzení má zásadní význam pro správné rozhodnutí o dalším uchování masa, nebo o jeho vhodném použití. Dále se zaměřujeme na elektrické vlastnosti tkání, které jsou důležité pro další měření.

Cílem práce bylo posoudit, jak se mění závislost impedance dielektrického vzorku na kmitočtu použitého elektrického signálu v průběhu optimálního stárnutí či zrání masa. Byly provedeny experimenty na různých typech neživých biologických tkání (především na kuřecím masu) při různých frekvencích, a to od 20 Hz až do 1 MHz. Frickův model popisuje měření impedance na nižších frekvencích, což jsou toky kolem buněk. U vyšších frekvencí membrány ztrácejí izolační vlastnosti a proud prochází současně oběma prostory (extracelulárním i intracelulárním). V našem případě je nejmarkantnější pokles impedance při nízkých kmitočtech do 100 Hz. U vyšších kmitočtů dosahují závislosti velmi nízkých statisticky nevýznamných hodnot.

V této práci bylo zjištěno, že impedance vzorku klesá s dobou stárnutí masa. Během ztuhnutí masa dochází k rozkladu proteinů, které vytvářejí strukturální trhliny. Tyto modifikace vedou ke snížení elektrické anizotropie masa a ke zmenšující se rezistenci svalových vláken. Při stárnutí vzorku dochází ke štěpení peptidů na oligopeptidy a aminokyseliny, rozkládají se tuky a může dojít i k mikrobiálnímu napadení. Tyto změny způsobují strukturální změny ve svalových vláknech a dochází ke snížení elektrické anizotropie masa a tím se sníží impedance tkáně.

V další části práce byly porovnávány různé závislosti. Měřily se vzorky masa při různých teplotách, dále se porovnávala závislost příčného a podélného řezu a hloubka a vzdálenost elektrod. Výsledky vyšly podle teoretických předpokladů. Impedance masa chlazeného byla nižší než vzorku masa zmraženého a rozmraženého. Výsledek je způsoben tím, že v mase rozmraženém se nachází více vody a jsou zde porušena svalová vlákna, což způsobuje horší průchod proudu vzorkem. Dokazovali jsme, že svalová tkáň je silně anizotropní a tudíž podélná vodivost je výrazně vyšší než příčná vodivost. Dále bylo zjištěno, že u měření impedance záleží na hloubce i vzdálenosti elektrod. U elektrody zapíchnuté blízko k povrchu masa je impedance nižší oproti elektrodě zapíchnuté hlouběji do masa, což je způsobeno tím, že povrch masa osychá a vyskytuje se zde větší činnost mikroorganismů oproti vnitřku tkáně, který je více vodnatý a obsahuje méně mikroorganismů. U vzdálenějších elektrod je impedance vyšší, než od elektrod bližších. Tento jev je způsobený snazším průchodem proudu mezi bližšími elektrodami.

V další části se srovnávaly výsledky elektrického a optického měření. V optickém měření bylo zjištěno, že některé vzorky významně ovlivnily posun fáze světelného paprsku během stárnutí. Jednalo se zejména o vzorky, které měly zřetelnou strukturu. Rozložení jejich svalových vláken tak ovlivňovalo výslednou polarizaci. Při měření kolmé a rovnoběžné orientace vláken je u elektrického měření vidět, že svalová tkáň projevuje silnou elektrickou anizotropní vlastnost. Podélná vodivost je výrazně vyšší než příčná vodivost. Avšak u optického měření se ukázalo, že změny jsou téměř nulové a informace nejsou konkrétní. Toto měření nemělo dostatečnou vypovídací hodnotu a je možné ho z dalších experimentů vynechat.

Nelze určit, zda je lepší optická, či elektrická metoda, obě mají své klady i zápory a u obou byly výsledky dostačující a mohou vést ke zjištění stáří vzorku. Elektrická metoda je mnohem účinnější u homogenních vzorků, u vláknitých vzorků vykazuje více chyb a není tak průkazná. Optická měření ukázala velmi dobré výsledky v případě vláknové struktury, bohužel nebyla příliš úspěšná u homogenních vzorků a nelze ji používat jako důkaz anizotropie tkáně. Z těchto důvodů by bylo nejlepší obě metody kombinovat.

Většina biomedicínského a biologického výzkumu probíhá na živých tkáních. Existuje minimum literatury, která by se zabývala studiem elektrických vlastností neživých tkání s cílem studia jejich stárnutí. Získané výsledky jsou základem k dalším experimentům, které by měly vést k hlubšímu pochopení této rozsáhlé problematiky.

Zdroje

- [1] INGR, I. *Produkce a zpracování masa*. Vyd. 2., nezměn. V Brně: Mendelova univerzita, 2011, 202 s. ISBN 978-80-7375-510-2.
- [2] INGR, I. *Technologie masa*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1996, 273 s. ISBN 80-7157-193-8.
- [3] PIPEK, P. a D. JIROTKOVÁ. *Hodnocení jakosti, zpracování a zbožiznalství živočišných produktů*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 2001, 136 s. ISBN 80-7040-490-6.
- [4] Všechno, úplně všechno o svalech: Typy svalové tkáně. 2011. Dostupné z: <http://www.fitkul.cz/clanky/199-Vsechno-uplne-vsechno-o-svalech>
- [5] VRÁNA, V., *Elektrické vlastnosti organismů*. Praha: SNTL-Nakladatelství technické literatury, 1974.
- [6] BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., P. JULIANO a M. PELEG. Engineering properties of foods. 2006, s. 32. Dostupné z: <http://www.eolss.net/ebooks/Sample%20Chapters/C10/E5-10-01.pdf>
- [7] MIKLAVIČ, D., N. PAVŠELJ a F.X. HART. Electric properties of tissues. Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering, 2006, ISBN: 978-0-471-74036-0. s. 12. DOI: 10.1002/9780471740360.ebs0403
- [8] BYRNE, C.E., D.J. TROY a D. J. BUCKLEY. Postmortem changes in muscle electrical properties of bovine M. longissimus dorsi and their relationship to meat quality attributes and pH fall. květen 1999. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174099000558>
- [9] DAMEZ J-L. a S. CLERJON. Beef meat electrical impedance spectroscopy and anisotropy sensing for non-invasive early assessment of meat ageing. leden 2007, s. 7. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877407003925>
- [10] MIKLÁŠ, J. *Optoelektronický senzor stavu polarizace světla na biologických vzorcích*. Brno, 2009. Diplomová práce. Dostupné z: http://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=27256.
- [11] Český svaz zpracovatelů masa: Atypické zrání a kažení masa. In: INGR, I. *Český svaz zpracovatelů masa: Atypické zrání a kažení masa* [online]. Copyright ©, 2003 [cit. 2012-10-07]. Dostupné z: <http://www.cszm.cz/clanek.asp?typ=1&id=895>

- [12] STEINHAUSER, Ladislav. Hygiena a technologie masa. 1 vyd. Brno: LAST, 1995, 643, s. ISBN 80-900260-4-4.
- [13] DAMEZ J. L, S. CLERJON, S. ABOUELKARAM a J. LEPETIT. Dielectric behavior of beef meat in the 1–1500kHz range: Simulation with the Fricke/Cole–Cole model. *Meat Science*, vol. 77 issue 4 December, 2007. 512-519 s.
- [14] TUCHIN V. V. Tissue Optics, 2nd edition, SPIE 2007, ISBN: 978-0-8194-6633-0.
- [15] HALLIDAY, D., RESNICK, R., WALKER, J.: Fyzika část 4, Elektromagnetické vlny – optika – relativita, VUTIUM, PROMETHEUS, Brno 2000
- [16] BALÍK, Zdeněk. *Návrh optoelektrického snímače biologických tkání*. Brno, 2013. Diplomová práce. Vysoké učení technické. Vedoucí práce prof. RNDr. Pavel Tománek, CSc.
- [17] GABRIEL, C., S. GABRIEL a Y. CORTHOUT. The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey. *Dielectric properties of biological tissues I*. 1996, roč. 1. Dostupné z: http://engineering.dartmouth.edu/~d25559k/ENGG168_files/Papers/The%20dielectric%20properties%20of%20biological%20tissues%20.1.%20Literature%20survey.pdf
- [18] EPSTEIN, B. R., & FOSTER, K. R. (1983). Anisotropy in the dielectric properties of skeletal muscle. *Medical and Biological Engineering and Computing*, roč. 21, s. 51–55
- [19] MICHALÍK, Ondřej. Druhy masa - nutriční hodnoty. 16. 05. 2009. Dostupné z: <http://www.nutritip.cz/view.php?cislocclanku=2009050004rstema=15nazevclanku>.
- [20] HWANG, I. H., C. E. DEVINE, a D. L. HOPKINS. (2003). The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. *Meat Science*, 65(2), 677–691. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00271-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00271-1)
- [21] DAMEZ, J.-L., a S. CLERJON. (2008). Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure. *Meat Science*, 80(1), 132–149. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.039>
- [22] BAJGAR, Aleš. *Optoelektronický senzor polarizačního stavu prošlého světla*. Brno, 2009. Dostupné z: <https://dspace.vutbr.cz/handle/11012/12160>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické. Vedoucí práce prof. RNDr. Pavel Tománek, CSc.

- [23] Encyklopedie fyziky: Odraz světla. 2013. Dostupné z:
<http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/437-odraz-svetla>
- [24] HOLÍK, Radek. *Sledování postmortálních změn jakosti u masa*. Zlín, 2008.
Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce doc.Ing. Jan Hrabě,
Ph.D.
- [25] LEE, S., J. M. .NORMAN, S. GUNASEKARAN, R.L.J. Van LAACK, B. C. KIM,
a R.G.. KAUFFMAN. (2000). Use of electrical conductivity to predict water-holding
capacity in post-rigor pork. *Meat Science*, 55(4), 385–389.
doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00166-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00166-7)
- [26] LEPETIT, J., P. SALÉ, R. FAVIER, a R. DALLE. (2002). Electrical impedance and
tenderisation in bovine meat. *Meat Science*, 60(1), 51–62.
doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(01\)00104-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00104-8)
- [27] Katedra speciální zootechniky: Produkce masa. *Produkce masa*. 2003. Dostupné z:
<http://ksz.af.czu.cz/drubez/maso.html>
- [28] ZELL, M., J.G. LYG, D.A. CRONIN, a D.J. MORGAN. (2009). Ohmic heating of
meats: Electrical conductivities of whole meats and processed meat ingredients. *Meat
Science*, 83(3), 563–570. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.07.005>
- [29] Prechodovy odpor, oteplenie a straty elektrických spojov. s. 18. Dostupné z:
http://www.medportal.cz/system/files/publikace/prechodovy_odpor.pdf
- [30] Snížení přechodového odporu elektrod. 13. 2. 2007. Dostupné z:
[http://migrace.eleferno.cz/index.php/cz/clanky/teorie/60-
sn%C3%AD%C5%BEn%C3%AD-p%C5%99echodov%C3%A9ho-odporu-elektrod](http://migrace.eleferno.cz/index.php/cz/clanky/teorie/60-sni%C3%AD%C5%BEn%C3%AD-p%C5%99echodov%C3%A9ho-odporu-elektrod)
- [31] DIBĚÁK, Tomáš. *Technologické vlastnosti masa – vaznost*. České Budějovice, 2012.
Bakalářská práce. Jihočeská univerzita. Vedoucí práce Ing. Pavel Smetana, Ph.D.
- [32] K. BANACH, Joanna a Ryszard ŻYWICA. Usability of beef conductivity properties
for assessment and kontrol of its ripeness. 2007, s. 4.
- [33] GUERMAZI, Mahdi, Uwe TRÖLTZSCH, Olfa KANOUN a Nabil DERBEL.
Assessment of beef meat aging using impedance spectroscopy. 2011
- [34] BODAKIAN, B. a F. X. HART. The Dielectric Properties of Meat. 1994, roč. 1, s. 7.

- [35] WHITMAN, T. A., J. C. FORREST, M. T. MORGAN a M. R. OKOS. Electrical Measurement for Detecting Early Postmortem Changes in Porcine Muscle. 2013, s. 13.
- [36] SAID, Tarek, V, VARADAN a VASUNDARA. Variation of Cole-Cole Model Parameters with the Complex Permittivity of Biological Tissues. s. 4.
- [37] PROKOPYEVA, Elena, Pavel TOMÁNEK, Lucie KOCOVÁ, Tomáš PALAI-DANY, Zdeněk BALÍK, Pavel ŠKARVADA a Lubomír GRMELA. (2013) Comparison of optical and electrical investigations of meat ageing. *Proceedings of SPIE*, roč. 8774, paper 8774-58.
- [38] KOCOVÁ, L. (2013) *Design and realization of electric measurements on biological tissues*, Proceedings of 16th Conference STUDENT EEICT 2013, Vysoké učení technické v Brně, díl 2, s. 176 – 178, ISBN 978-80-214-4694-6.

Seznam zkratek, symbolů

K	Draslík
Ca	Vápník
Mg	Hořčík
Fe	Železo
Se	Selen
Na	Sodík
Cl	Chlór
ATP	Adenosintrifosfát
PSE	Pale, soft, exudative – bledé, měkké, vodnaté
DFD	Dark, firm, dry – tmavé, tuhé, suché
ECF	Extracelulární tekutina
ICF	Intracelulární tekutina
R	Odpor
L	Délka
ϵ	Elektrická permitivita
C	Kapacita
X	Reaktance
Re	Reálná část
Im	Imaginární část
Hz	Herzt
MHz	Megahertz
W	Watt
LC	Nízké napětí
LP	Nízký proud
HC	Vysoký proud
HP	Vysoké napětí
Z	Impedance
U	Napětí
I	Proud

Přílohy

Seznam příloh:

Příloha 1. : Comparison of optical and electrical investigations of meat ageing

Příloha 2. : Design and realization of electric measurements on biological tissues

Příloha 1.

Comparison of optical and electrical investigations of meat ageing

Elena Prokopyeva, Pavel Tománek*, Lucie Kocová, Tomáš Palai-Dany, Zdeněk Balík, Pavel Škarvada, Lubomír Grmela

Brno University of Technology, Faculty of Electrical Engineering and Communication, Physics Department, Technická 8, 616 00 Brno, Czech Republic

ABSTRACT

Different ultrasonic, electromagnetic, electrical and optical methods are used for meat ageing detection. Muscles are turbid anisotropic media; they exhibit changes in electrical and optical properties according to the direction of the electrical and optical fields in the sample.

The work assesses the feasibility of impedance measurements for meat ageing detection and their comparison with optical measurement of scattered light. The pork chop slices were used for their relative homogeneity. An investigation was carried out for the detection of the ageing of unpacked slices exposed directly to the air, and other packed in polyethylene bags. The electrical method is a promising method due to the possibility of getting much information and realizing cheap and fast enough measurement systems. The optical method allows measure the rotation of polarization plane in the range of 95 degrees within considered period. Nevertheless, further work has to be provided to determine closer relationships between optical scattering characteristics, electrical anisotropy in ageing-related tissue structural properties.

Keywords: Anisotropy, impedance, scattering, polarization, meat, ageing

1. INTRODUCTION

The study of biological tissue is a rapidly expanding field of great interest to those involved mainly in the development of optical medical technologies and food control ^{1,2}. The variety of methods and instruments for in-line process and quality control and for rapid measurements in food industry has rapidly expanded ²⁻⁵. Many different measuring setups, as well as sensors have been investigated. Chemical sensors and biosensors, including semiconductor, acoustic and optical devices as well as direct electric measurement, offer considerable potential for the monitoring of food composition and the prediction of its degradation. Compositional analysis with infrared, microwave and ultrasonic techniques offers the advantage of non-invasive hygienic in-line monitoring. Based on knowledge of the dielectric and acoustic properties of foods, these techniques can be applied to a range of in-line analysis tasks ^{3,6}.

The composition of tissue can be affected by process conditions and material history. So the amount of affecting attributes can be defined as engineering properties ³.

Traditionally, the engineering properties are divided into the following categories:

- mechanical (structural, geometrical, and strength),
- thermal (specific heat, thermal conductivity, and diffusivity),
- electrical (conductivity and permittivity),
- optical (color, gloss, and translucency) properties.

Most of them indicate changes in the chemical composition and structural organization of tissues or foods ranging from the molecular to the macroscopic level. A change in either composition or structure usually results in a simultaneous change in several properties.

Electrical and optical sensing methods for real-time inspection of food and agricultural products can present solutions to problems of speed, accuracy, and consistency that are related to inspection for product quality and safety based on physical and chemical characteristics. In the following we shall compare electrical impedance measurement with optical measurement on ageing pork meat samples.

* e-mail: tomanek@feec.vutbr.cz; phone: +420-541 143 278; fax: +420-541 143 133

2. BIOLOGICAL TISSUE IN ELECTRIC AND OPTICAL FIELD

Biological tissue, particularly meat, which is a post-mortem material, is considered as a random inhomogeneous, anisotropic, chiral medium.

Its electrical properties can be broadly divided into two categories: conducting and insulating⁴. In a conductor, the electric charges move freely in response to application of electric field, whereas in an insulator (dielectric), the charges are fixed and not free to move. When considering electrical properties, we deal with some basic quantities. Electrical conductivity is the ability of a substance to conduct electric current. Resistivity is the inverse of conductivity and is linked with impedance. Electrical impedance is the combined opposition to the flow of current offered by the resistive, capacitive, and inductive components. Electrical resistivity of a material is defined as the resistance to the current passing across a 1-cm cube of material (Fig.1).

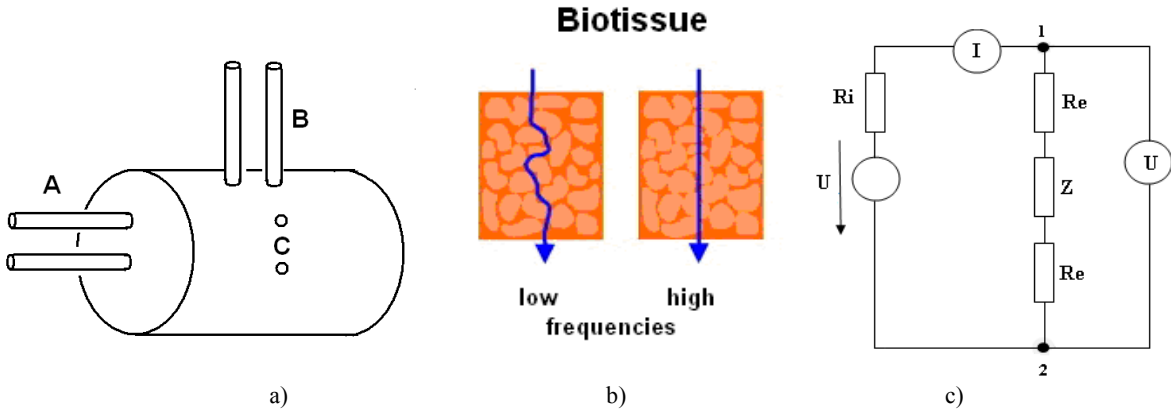


Figure 1. a) Orientation of electrodes in experiment.(Here muscle fibers are oriented horizontally). b) Current flow in biotissue for low and high frequencies; c) Electrical model of biotissues.

The biological tissue renders imaging difficult due to the random multiple scattering of light^{2, 7,8}. Light scattering in biological tissue originates its inhomogeneities such as cellular organelles, extracellular matrix, blood vessels, etc. Inhomogeneities in the media cause scattering which may alter the direction of propagation, polarization and phase of the light. The propagation of light through such media may be analyzed either by means of the wave or the photon theory, respectively. This often translates into unique angular, polarization, and spectroscopic features of scattered light emerging from tissue, and therefore information about tissue macroscopic and microscopic structure can be obtained from the polarization characteristics of scattered light⁹.

The state of polarization and intensity of a light beam incident on the medium is specified by the 4×1 Stokes vector \mathbf{S} in the following form:

$$\mathbf{S} = \begin{bmatrix} I \\ Q \\ U \\ V \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix}. \quad (1)$$

where $I \equiv S_0$ is total intensity, $Q \equiv S_1$ – polarization at 0° or 90° to the scattering plane, $U \equiv S_2$ – polarization at $\pm 45^\circ$ to the scattering plane, and $V \equiv S_3$ – left or right circular polarization, and S_0, S_1, S_2, S_3 represent four elements of Stokes vector \mathbf{S} . Another quantity of interest in radiative transfer of polarized light is the degree of polarization DOP of the light. This is defined as

$$DOP = \frac{\sqrt{Q^2 + U^2 + V^2}}{I} = \frac{\sqrt{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2}}{S_0} = \sqrt{(DOP_L)^2 + (DOP_C)^2}. \quad (2)$$

where the degree of *linear* polarization DOP_L is defined by

$$DOP_L = \frac{\sqrt{Q^2 + U^2}}{I} = \frac{\sqrt{S_1^2 + S_2^2}}{S_0}. \quad (3)$$

The quantity $\sqrt{Q^2 + U^2}$ represents the magnitude of linear polarization in the light field. However, it does not specify the orientation of the electric vector. Further, the degree of *circular* polarization (DOP_c) is defined by

$$DOP_c = \frac{V}{I} = \frac{S_3}{S_0}. \quad (4)$$

The 4×4 scattering matrix $\mathbf{S}(\Theta)$ transforms the Stokes vector of an incident light beam to the Stokes vector of a scattered light beam. The scattering matrix can be obtained experimentally, or derived in a rigorous manner. For scattering by a medium composed of spherical scatterers, this matrix can be derived rigorously by use of the Maxwell equations with appropriate boundary conditions. The form of this matrix is given by

$$\mathbf{S}(\Theta) = \begin{bmatrix} p_{11}(\Theta) & p_{21}(\Theta) & 0 & 0 \\ p_{21}(\Theta) & p_{11}(\Theta) & 0 & 0 \\ 0 & 0 & s_{21}(\Theta) & -d_{21}(\Theta) \\ 0 & 0 & d_{21}(\Theta) & s_{21}(\Theta) \end{bmatrix} \quad (5)$$

where $\mathbf{S}(\Theta)$ is a function of the included angle Θ between the incident and scattered light beams. $p_{11}(\Theta)$, $p_{21}(\Theta)$, $s_{21}(\Theta)$ and $d_{21}(\Theta)$ are independent parts of Mie phase function representing four elements of the matrix.

All the elements of the scattering matrix $\mathbf{S}(\Theta)$ are real. The scattering matrix $\mathbf{S}(\Theta)$ operates on the incident Stokes vector. Note that the shaded region is the scattering plane. Each of the four independent functions in (5) is a function of the size parameter $x = n_m \pi d / \lambda$, where d is the diameter of the single scatterer and n_m is the refractive index of the medium surrounding the scatterers, and the relative complex index of refraction ($m = n - i\kappa$) of the cylinder scatterer - muscle fiber. It should be noted that $p_{11}(\Theta)$ is normalized as

$$\frac{1}{4\pi} \int_{4\pi} p_{11}(\Theta) d\Omega = 1 \quad (6)$$

where Ω is the solid angle and $p_{11}(\Theta)$ is the scalar Mie phase function.

2.1. Samples

For our investigation, pork chops have been cut in slices of 10 mm thick. The time of slaughtering was well known. Muscles excised 1 h after slaughter were vacuum packed and stored for 24 h in water at 15°C for a slow decrease in temperature in order to avoid cold shortening. Hence the measurements started 24 hours later and were performed 5 times within 3 day period (with interval of 12 h). After each measurement, one slice was conserved in the fridge at the temperature +5°C and other exposed to the room temperature of 20-23°C during all 3 day period.

Skeletal muscle exhibits strong electrical anisotropy and electrical impedance varies according to whether the current runs parallel or perpendicular to muscle fiber. So, in direction A (Fig. 1a), the longitudinal axes of the measuring electric needles were coaxial with those of the myofibers. In direction B, the longitudinal axes of the needles were perpendicular to those of the myofibers, but the plane of the needles was parallel to the longitudinal axes of the myofibers. In direction C, both the longitudinal axes of the needles and the plane in which the needles were located were perpendicular to the longitudinal axes of the myofibers. To keep electrode area constant, only the deepest 15 mm of needle length was in electrical contact with the sample (the base of each needle was insulated).

For optical measurement the meat slices were posed on the mirror to obtain backscattered light from the sample.

3. ELECTRICAL MEASUREMENT

For this study, a sensor composed of five stainless needles was used (Fig.2). The needles were aligned and spaced 10 mm apart ($\varnothing = 0.6$ mm; $L = 25$ mm). Measurements were made sequentially on pairs of electrodes, allowing 10 measures on meat samples over distances of 10–50 mm, using an impedance/gain-phase analyzer (HP 4284A, Hewlett–Packard) scanning 320 frequencies ranging from 20 Hz to 1.5 MHz. A sinusoidal signal was used as excitation signal with the fixed voltage $U = 50$ mV (Fig 2). On each samples the sensor was applied longitudinally then transversally to the fiber direction, giving respectively lineic longitudinal impedance Z_{IL} and lineic transversal impedance Z_{IT} , and allowing calculation of the lineic anisotropy index A_l where $A_l = Z_{IT} - Z_{IL}$. For the evaluation of ageing change, only the measurement for electrodes oriented parallel to the meat fibers has been considered.

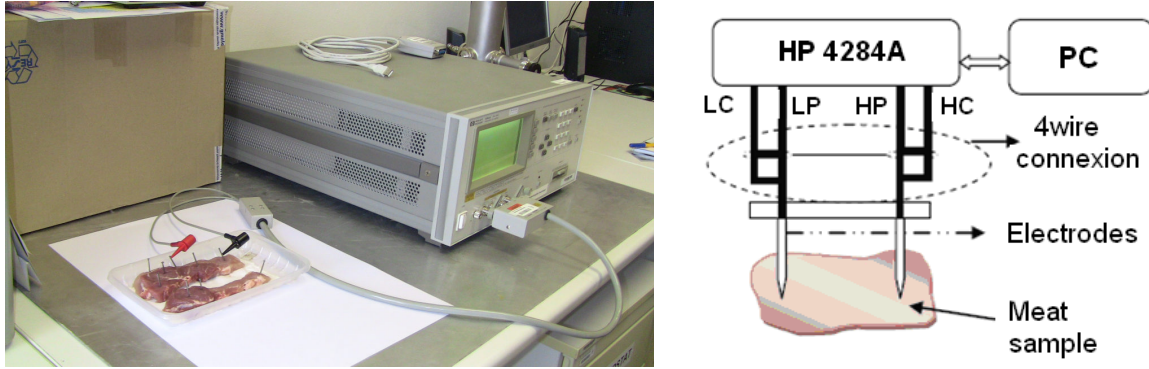


Figure 2. Experimental setup and detail of measuring electrodes.

Figure 3 illustrates the impedance spectra. It shows that the slope of the straight line, corresponding to the lineic impedance, is both orientation and frequency-dependent, while electrode contact impedances are only frequency-dependent, decreasing as frequency increases. For frequencies between 20 Hz and 100 kHz the transverse impedance of the fresh sample is ~ 1.5 - $2\times$ the longitudinal one. For the defrosted sample the anisotropy is still present, but not as pronounced, an increase of $\sim 50\%$ for the longitudinal impedance. For each configuration the impedance has been decreased substantially by the freezing and defrosting process. A slight anisotropy is present for the commercial pork chop. Its conductivity is much lower than either the fresh or defrosted samples and is approximately independent of frequency > 300 Hz. Similar results were obtained for the permittivity spectra, too.

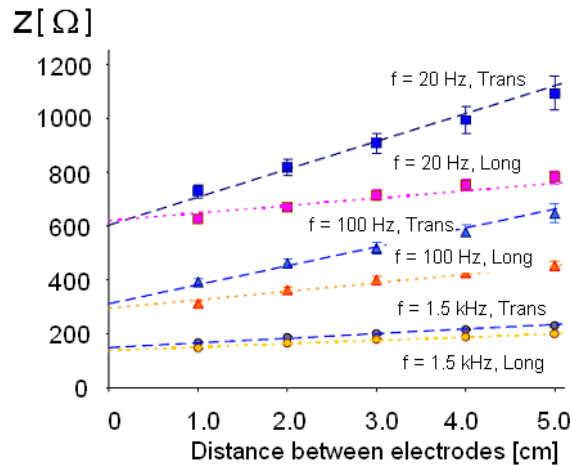


Figure 3. Average impedance of pork meat against distance between electrodes at 20 Hz, 100 Hz, 1.5 kHz in the transversal direction B (across meat fibers) and the longitudinal direction A (along fibers).

Figure 4 represents meat impedance vs. frequency (20 Hz to 1.5 MHz) for both samples. Fresh meat was measured at time 0, then cooled after 12, 24, and 48 h. This results are compared with sample stored 72 h in room temperature. Distance of electrodes = 2 cm.

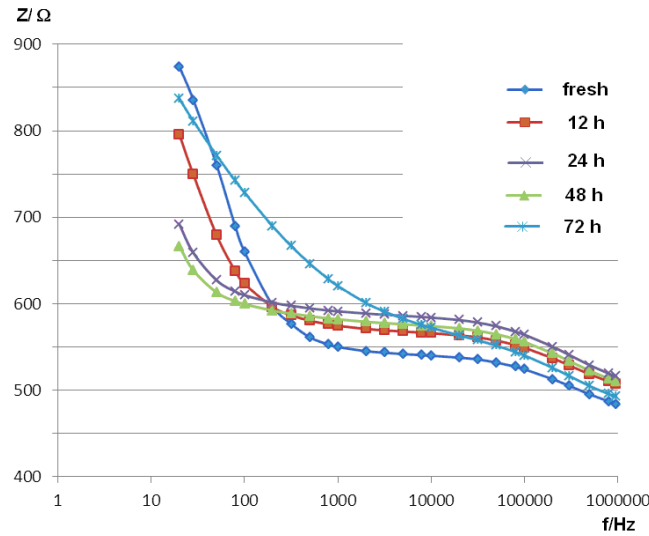


Fig. 4. Meat impedance vs. frequency for pork meat sample. Fresh meat, after 12, 24, 48 in the cooler, and 72 hours (room temperature). Distance of electrodes = 2 cm.

4. OPTICAL MEASUREMENT

Optical system¹⁰ consists of a linearly polarized laser diode source which illuminates the meat sample, and an analyzer/photodetector combination to measure the scattered light intensity and the polarization properties of the backscattered light. Collimated linearly polarized light from red laser diode ($\lambda = 635$ nm and output power of 5 mW) was focused onto a spot on meat surface localized in the center between two electrodes. The myofibers themselves appeared to act as optical fibers, channelling light more readily along, rather than across their length. The slice was superimposed on the mirror which served to enhance the output signal. Transmitted light passing through the sample was reflected on the sample holder mirror, reflected back through the meat again, and combined with the simply reflected and back-scattered light inside the sample. Then the signal was passing through an analyzer (quarter-wave plate) attached with a rotating mount. The analyzer transmission axis has been sequentially rotated from 0 to 360 degrees. In addition, a half-wave plate was inserted to compensate a rotation, because carbohydrates in the muscles have chiral carbon atoms, so the structure is optically active. Scattered light was collected by and measured with a photomultiplier with square surface of 25.0 mm² and minima and maxima of polarization intensity were measured.

The analyzer and detector were placed at an angle of $< 15^\circ$ from the optical axis at distance of 100mm from the surface of the sample.

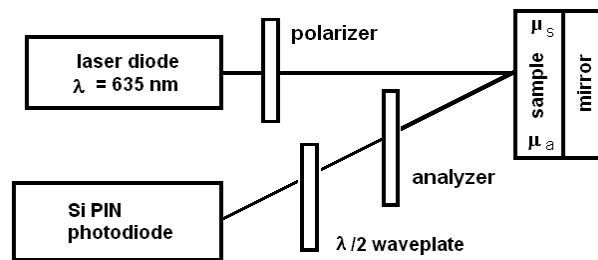


Figure 5. Experimental set-up for the measurement of polarization variations of light backscattered from the sample.

In Figure 6 Monte Carlo computed degree of linear DOP_L and circular polarization DOP_C vs. distance of detector r for a number of muscle fiber diameters d and optical thicknesses ($L = 0.1$ mm, 1.0 and 5.0 mm) are shown. The behavior here is very interesting.

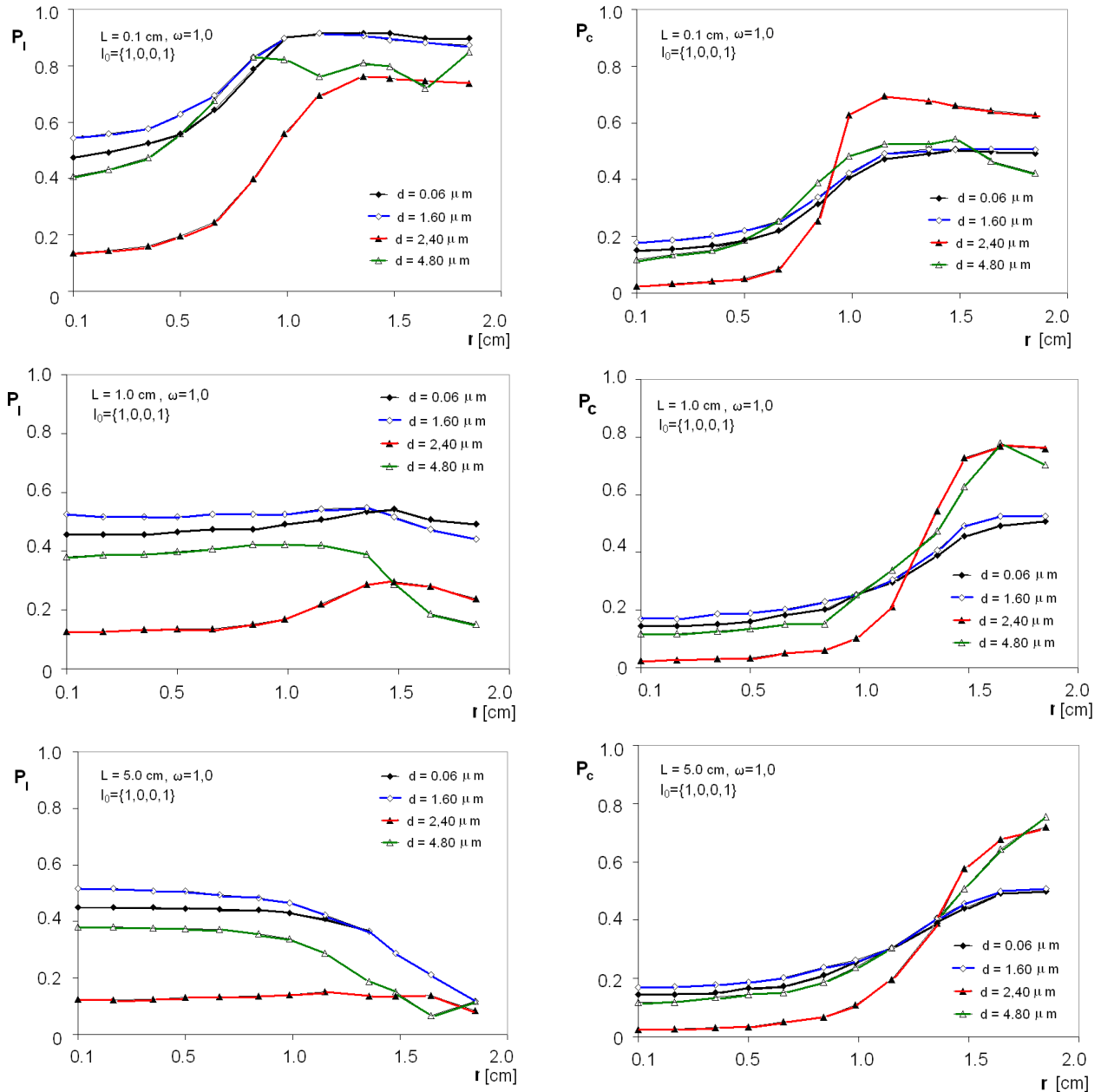


Figure 6. Monte Carlo computed degree of linear (P_L) and circular polarization (P_C) vs. distance of detector r for a number of muscle fiber diameters d and optical thicknesses ($L = 0.1$ mm, 1.0 and 5.0 mm).

For an optical depth of $L = 0.1$ cm, the DOP_L at large optical radii exhibits a behavior that is monotonic with respect to particle size. The DOP_L decreases with an increase in scatterer size. The case of $d = 4.80$ μm , however, shows an anomalous behavior in the sense that the data are highly oscillatory at even small optical radii. This is because the intensity is very low in this region for $d = 4.80$ μm . Similar trends are also observed for larger optical thicknesses. However, the degree of linear polarization decreases for a given size parameter with an increase in the optical thickness. The interesting feature in Fig. 6 is due to the fact that, even at reasonably large optical radii, the light field exhibits a high

degree of linear polarization. Thus even for quite a large number of occurring scattering events, the light field retains its polarized character.

The degree of circular polarization DOP_C is almost identical for all optical depths at small optical radii. The anomalous behavior for a size parameter of $d = 4.80 \mu\text{m}$ can be explained in a similar manner to the previous paragraph. At large optical radii, the trend is an increase in the degree of circular polarization for larger size parameters. This can be explained as follows: for small size parameters, the d_{21} term in the scattering matrix (5) is negligible, and often $= 0$. Thus the circular component $V(1)$ behaves as a scalar intensity with an effective albedo $\omega < 1$. So, it approaches zero much faster than the actual intensity I . However, with an increase in the size parameter, the quantity d_{22} becomes more significant. The physical effect of d_{21} is the coupling of the circular and linear components of the light field. Thus, for a larger size parameter, an increase in the conversion of linear light to circular light can be expected. Another interesting feature to be observed is that the sign of the degree of circular polarization goes negative as the optical radius is increased. In other words, the direction of rotation of the electric vector changes at larger optical radii. However, the degree of circular polarization does not seem to decrease appreciably at large optical radii for increased optical depths of the medium. Again, the interesting physical effect is that the light field is polarized at large optical radii.

Figure 7 represents the results of depolarization measurement in function of meat ageing time for real pork chop sample. The thickness of slice was of 1 cm, and the room temperature varied between $20^\circ\text{C} - 23^\circ\text{C}$ during 72 hour period. The correlation of this result with computed DOP shows, that the diameters of real fiber is very similar to computed $d = 2,40 \mu\text{m}$.

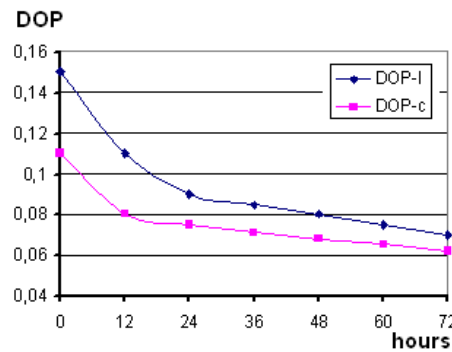


Figure 7: Dynamics of DOP vs. meat ageing time after slaughter (backscattered light) measured for $L = 1.0$ cm sample thickness.

6. CONCLUSIONS

The aim of the work presented here was to assess meat ageing states by means of a simple apparatus based on the measurement of electrical and dielectric, as well as optical backscattering parameters, shown to be linked to meat fiber strength. Biological tissues, especially muscle, are anisotropic, i.e. their impedance and backscattered light vary according to whether current and light is propagated along or across fibers. The structural modifications of meat that occur during ageing affect not only the mechanical but also the dielectric properties of meat.

The linear degree of polarization DOP_L at small optical radii of scatterers is the same and independent of optical depth. This is because at small optical depths, the multiple scattering is primarily second-order. Thus the double scattered Stokes matrix for backscatter light, which is important for biological tissue measurement, becomes essentially independent of optical depth. However, the variation with respect to particle size is harder to explain, particularly at small radii.

Our results show that electrical and optical measurements have high potential for use in the quality control of animal tissues. However, further research is still needed to separate the effects of the various factors such as pH, state of membranes, fat content and state of maturation.

ACKNOWLEDGMENTS

This work has been financially supported by the European Centre of Excellence CEITEC CZ.1.05/1.1.00/02.0068, by project Sensor, Information and Communication Systems SIX CZ.1.05/2.1.00/03.0072, as well as by grant GAČR 102/11/0995 "Electron transport, Noise and Diagnostics of Schottky and Autoemission Cathodes".

REFERENCES

- [1] Byrne, C.E., Troy, D.J. and Buckley, D.J., "Postmortem changes in muscle electrical properties of bovine M. longissimus dorsi and their relationship to meat duality attributes and pH fall," *Meat Sci.*, 54(1), 23-34 (2000).
- [2] Tuchin, V.V., [Tissue Optics: Light scattering methods and instruments for medical diagnosis], 2nd Ed., SPIE Press, Bellingham (2007).
- [3] Barbosa-Cánovas, G.V., Juliano, P. and Peleg, M., [Food Engineering. Encyclopedia of Life Support Science], Barbosa-Cánovas, G.V., (Ed.), Paris: EOLSS Publishers/UNESCO, 25-43 (2005).
- [4] Miklavič, D., Pavšelj, N. and Hart, F. X., "Electric properties of tissues," [Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering], 3578-3589 (2006).
- [5] Cheong, W.F., Prahl, S.A. and Welch, A.J., "A review of optical properties of biological tissues," *IEEE J. Quant. Electron.*, 26(12), 2166-2185 (1990).
- [6] Damez, J.L., Clerjon, S., Abouelkaram, S. and Lepetit, J., "Dielectric behavior of beef meat in the 1–1500kHz range: Simulation with the Fricke/Cole–Cole model," *Meat Sci.*, 77(4), 512-519 (2007).
- [7] Jacques, S. L., "Laser-tissue interactions. Photochemical, photothermal, and photomechanical," *Surg. Clin. N. Am.*, 72(3), 531-558, (1992).
- [8] Tománek, P., Mikláš, J., Bajgar, A., Grmela, L., Dobis, P. and Brüstlová, J., "Sensor of back-scattered light polarization in body cells," *Proc. SPIE*, vol. 7356, paper ID 735685, 9 p. (2009).
- [9] Hulst, van de, H.C., [Light scattering by small particles], Dover Publications, New York, (1981).
- [10] Abubaker, H.M., Tománek, P. and Grmela, L., "Measurement of dynamic variations of polarized light in processed meat due to aging," *Proc. SPIE*, vol. 8306, paper ID 8036001 (2011).

Příloha 2 :

DESIGN AND REALIZATION OF ELECTRIC MEASUREMENTS ON BIOLOGICAL TISSUES

Lucie Kocová

Master Degree Programme (5), FEEC VUT

E-mail: xkocov00@stud.feec.vutbr.cz

Supervised by: Pavel Tománek

E-mail: tomanek@feec.vutbr.cz

Abstract: This work is focusing on the electrical properties of biological tissues and meat in particular. From the electrical point of view, meat can be simply expressed by the field of elongated conductive cells which are separated by the insulating membrane from each other. We have used a two-electrode method that is advantageous for us. The objective of this work was the observation of impedance changes vs. frequency in function of meat aging.

Keywords: Biological tissue, electric properties of tissue, impedance

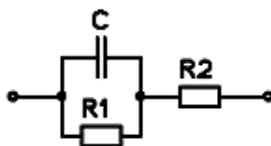
1. ÚVOD

Kvalita potravin, zejména masa a masných výrobků, je dnes velice diskutovaným tématem. S průmyslovou výrobou potravin se zvyšují nároky na kvalitu i na kontrolu a měření jejich vlastností. Maso, jako jedna ze základních potravin obyvatel rozvinutých zemí, je díky svému charakteru velmi náchylné k degradaci v důsledku skladování. Proto se klade stále větší důraz na kontrolu jeho kvality. Tato práce je zaměřena na elektrické vlastnosti biologických tkání, zvláště tedy masa. Elektrické vlastnosti biologických tkání byly předmětem zájmu více než století. Znalost těchto elektrických vlastností vede k pochopení základních biologických procesů spojených se stárnutím masa.

2. ELEKTRICKÉ VLASTNOSTI TKÁNÍ

Elektrické vlastnosti tkání závisejí na fyzikálních a chemických parametrech, které určují koncentraci a pohyblivost iontů v rámci metabolických tekutin. Z elektrického hlediska může být maso jednoduše nahrazeno polem protáhlých vodivých buněk izolovaných od sebe izolační membránou. Existují dvě základní elektrické vlastnosti biologických tkání, a to elektrická vodivost a elektrická permitivita. Obě tyto vlastnosti jsou velice důležité při zpracování potravin elektrickým proudem nebo při určování kvality potravin, [1,2].

Biologické tkáně, hlavně maso, jsou silně nehomogenní a anizotropní, tj. jejich impedance se mění s velikostí proudu protékajícího podélně nebo příčně svalovým vláknem. Strukturální změny masa, které nastávají během zrání před tuhnutím a po tuhnutí rozpadem bílkovin, neovlivňují jenom mechanické, ale také elektrické a dielektrické vlastnosti masa [1].

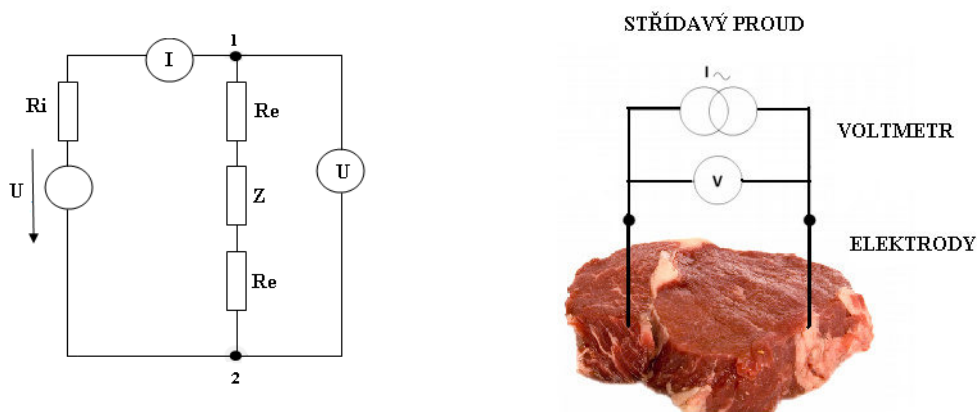


Obrázek 1: Model elektrické impedance tkáně

Elektrická impedance $Z = U/I$ je vlastnost materiálu, která brání toku proudu. Je to odpor, který materiál klade střídavému proudu. Model elektrické impedance (obr. 1) lze popsat jako paralelní zapojení rezistoru R_1 s kapacitorem C a do série k nim je zapojen rezistor R_2 . V tomto modelu kapacitor C modeluje celkovou kapacitu ve tkáni a to především kapacitu buněčných membrán, nebo také kapacitu plošných vazivových struktur. Rezistor R_1 modeluje elektrickou vodivost tělesných tekutin (především extracelulární). Rezistor R_2 odpovídá především kožnímu odporu (a z části tělesné tekutiny). [3]

3. ZPŮSOBY MĚŘENÍ IMPEDANČNÍCH PARAMETRŮ

Dvě nerezové elektrody slouží k vybuzení elektrického proudu I v obvodu a ve vzorku masa a k měření napětí V mezi těmito dvěma elektrodami. Při této metodě tedy měříme v sérii s měřenou impedancí poměrně špatně definovatelné přechodové odpory, jejichž velikost silně závisí na kvalitě připojení elektrod ke tkáni (obr. 2).

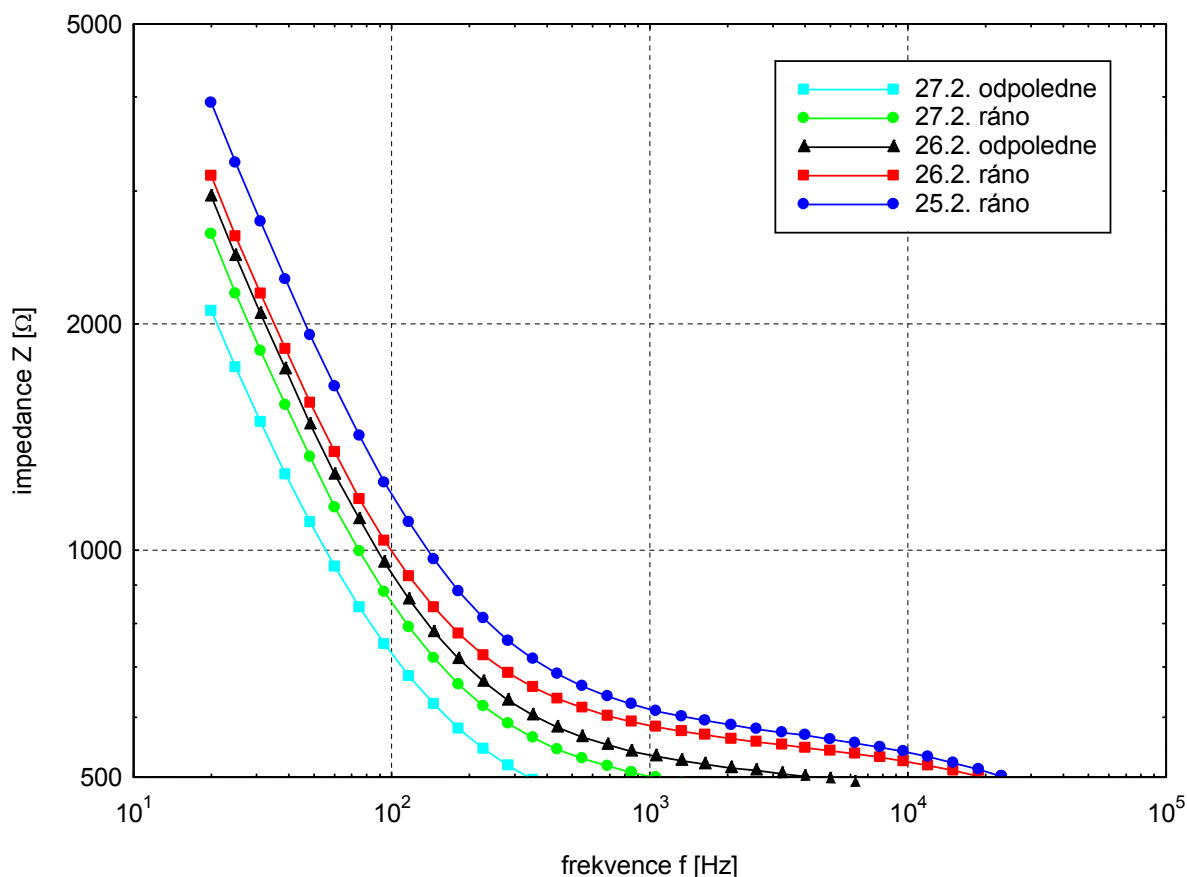


Obrázek 2: Měření pomocí dvuelektrodové metody.

Cílem našeho měření bylo pozorování změny impedance na kmitočtu elektrického signálu při postupném stárnutí kuřecího masa po dobu 48 hodin v 12hodinovém intervalu.

Počáteční měření začalo jeden den po porážce kuřat, abychom se maximálně přiblížili normálním podmínkám prodeje chlazené drůbeže. Z kuřecích prsíček byla odstraněna kůže a byly z nich nařezány plátky o tloušťce 1 cm tak, aby orientace vláken byla rovnoběžná nebo kolmá k měřicím elektrodám z nerezového drátku o průměru 0,5 mm. Elektrody byly zapíchnuty do masa v různých hloubkách (2mm a 6 mm) a byly od sebe vzdáleny 3 cm. Vzorky masa byly mezi měřeními, které byly prováděny při pokojové teplotě 23°C, uloženy v chladničce ($t = 5^{\circ}\text{C}$). Měření bylo provedeno impedančním analyzátozem HP 4284A a použitím dvou vodičového měřicího adaptéru Agilent 16089C.

Pomocí programu v Matlabu zaznamenával impedanční analyzátor naměřené hodnoty přímo do Excelu. Obrázek 3 reprezentuje závislost impedance na kmitočtu. Z obr. 3 je patrné, že k největším časovým změnám impedance dochází při nízkých kmitočtech do 1 kHz. Z obr. 3 je také patrné, že po 48 hodinách uchovávání masa v chladničce začíná docházet k degradaci masa a poklesu jeho impedance.



Obrázek 3: Graf časové závislosti impedance na kmitočtu zdroje

4. ZÁVĚR

Cílem práce bylo posoudit, jak se mění závislost impedance dielektrického vzorku (kuřecího masa) na kmitočtu použitého elektrického signálu v průběhu optimálního stárnutí či zrání masa. Během ztuhnutí masa dochází k rozkladu proteinů, které vytvářejí strukturální trhliny. Tyto modifikace vedou ke snížení elektrické anizotropie masa a ke zmenšující se rezistenci svalových vláken.

V této práci bylo zatím zjištěno, že impedance vzorku klesá s dobou stárnutí masa a tento pokles je nejmarkantnější při nízkých kmitočtech do 1 kHz. Při vyšších kmitočtech dosahují závislosti velmi blízkých, statisticky nevýznamných hodnot. Ukazuje se, že měření impedance by mohlo být dobrou a relativně rychlou metodou ke zjišťování zralosti kuřecího masa.

LITERATURA

- [1] INGR, I. *Technologie masa*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1996, 273 s. ISBN 80-7157-193-8.
- [2] VRÁNA, V., *Elektrické vlastnosti organismů*. Praha: SNTL-Nakladatelství technické literatury, 1974
- [3] MIKLAVIČ, D., N. PAVŠELJ a F.X. HART. Electric properties of tissues. Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering, 2006, ISBN: 978-0-471-74036-0. s. 12. DOI: 10.1002/9780471740360.ebs0403